

O'ZBEKISTON RESPUBLIKASI QISHLOQ VA SUV XO'JALIGI VAZIRLIGI
SAMARQAND QISHLOQ XO'JALIK INSTITUTI

Agranomiya fakulteti «5620400-Qishloq xo'jaligi
ekinlari, urug'chiligi va selektsiyasi» ta'lim
yo'nalishi bitiruvchisi

ABDUAZIMOV AKRAMNING
BITIRUV - MALAKAVIY ISHI

MAVZU: Biotexnologik usullardan foydalanishning kartoshka
seleksiyasidagi ahamiyati

Ilmiy rahbar, professor _____ I. T. Ergashev

“Genetika, selektsiya va urug'chilik”

kafedrasi mudiri professor

_____ I. T. Ergashev

“ ” _____ 2013 yil

№ _____ sonli yig'ilishi

Agranomiya fakulteti dekani,

dotsent _____ M.A. Hayitov

“ ”

_____ 2013 yil

Samarqand-2013

M U N D A R I J A

KIRISH.....

I. ADABIYOTLAR SHARXI

1.1. Qishloq xujaligida biotexnologik usullardan foydalanishning istikbollari

1.2. O'simlikshunoslikda gen muxandisligining moddiy asoslari.....

1.3. Seleksiyada foydalaniladigan biotexnologik usullarning imkoniyatlari

1.3.1. Gen va hujayra muxandisligi.....

1.3.2. Monogaploidlar va changdon ekini olish.

1.3.3. Xujayralarni duragaylash.....

1.3.4. O'simliklar seleksiyasida In vitro usulini qo'llash.....

1.3.5. Rekombinant DNK olish, genlar bibliotekasini yaratish va individual genlarni ajratish.....

1.3.6. O'simliklarni sog'lomlashtirish va klonal mikroko'paytirish.....

2. MAMLAKATIMIZNI MODERNIZASIYA QILISH VA KUCHLI

FUQAROLIK JAMIYAT BARPO ETISH-USTIVOR

MAQSADIMIZDIR

3. JAXON MOLIYAVIY VA IQTISODIY INQIROZI

SHAROITIDA MAVZUNING DOLZARBLIGI

4. HAYOT FAOLIYAT XAVFSIZLIGI TADBIRLARI

5. TABIATNI MUHOFAZA QILISH.....

XULOSALAR.....

FOYDALANILGAN ADABIYOTLAR RUYXATI.....

ILOVALAR.....

INTERNET MA'LUMOTLARI

Qishloq xo'jalik ekinlari orasida kartoshka oldingi o'rinlardan birini egallaydi. O'zbekistonda kartoshka seleksiyasi va urug'chiligida biotexnologik usullardan foydalanish kam o'rganilgan sohalardan biri bo'lib hisoblanadi. Yuqori hosildor, kasallik va zararkunandalarga, yotib qolishga chidamli, tuganaklar sifati bo'yicha yuqori potensial imkoniyatlarga ega navlarga bo'lgan ehtiyoj o'sib borayotganligi uchun ham biotexnologik usullardan foydalanib ekin genofondini boyitish, ulardan seleksiyada samarali foydalanish yangi navlarni va urug'chilik uchun ilmiy asoslangan texnologiyalarni yaratish fan va qishloq xo'jalikning dolzarb masalalardan biri bo'lib hisoblanadi.

Jahonning ko'pgina ilg'or mamlakatlarida biotexnologik usullardan foydalanish qishloq xo'jalik ekinlari seleksiyasi va urug'chiligida keng imkoniyatlarni ochib beradi, chunki o'simliklarni genetik potensialini kengaytirish yo'nalishidagi boshqa seleksion usullarning imkoniyati chegaralangan.

O'zbekistonda keyingi vaqtlarda g'o'za genofondini yaratish va boyitish uchun e'tiborga loyiq ishlar olib borilmoqda, ulardan ekinning seleksiyasida foydalanish usullari va amallari ishlab chiqilmoqda.

Hozirgi vaqtda O'zbekistonda kartoshka seleksiyasida biotexnologik usullardan foydalanish yaxshi o'rganilmagan masalalardan bo'lib hisoblanadi. Lekin yuqori hosildor, kasallik va zararkunandalarga, yotib qolishga chidamli, tuganaklar sifati yuqori potensial imkoniyatlarga ega yo'nalishli navlarni ishlab chiqarishga bo'lgan ehtiyoj o'sib bormoqda. Shuning uchun hambiotexnologik usullardan foydalanib genofondni boyitish, yangi navlarni va urug'chilikka ilmiy asoslangan tashkilotlarni yaratish fan va qishloq xo'jalikning va aktual masalalardan biri bo'lib hisoblanadi.

Kartoshka tuganaklardan ko'payganligi uchun ko'pgina kasalliklar keyingi avlodlarga beriladi, bu esa ekinning urug'lik sifatini pasayishini asosiy sabablaridan biri hisoblanadi. Tadqiqotlardan aniqlanishiga o'simtaning eng uchki qismi (0,1-0,3mm) kartoshkani zararlovchi virus va bakteriyalardan ham ekanligi aniqlangan. Bu o'z navbatida viruslardan xoli urug'chilikning samarasini aniqlaydi.

Kartoshkaning shaxsiy urug'lik fondini yaratish o'z navbatida boshqa davlatlardan super elita va elita kartoshka olib kirishni kamayishiga va to'xtatishga olib keladi.

Seleksiyada foydalaniladigan genofondning xilma – xilligi ma'lum darajada ishning muvaffaqiyatini belgilaydi. Chunki, genobank qancha boy bo'lsa, ulardan kerakli genotipni topish va ajratish imkoniyati shuncha yuqori bo'ladi. Shuning uchun ham bunday usulda seleksiya ishlari olib borish uchun avvalo kerakli genotiplarga ega bo'lgan nav va namunalarning kolleksiyasi yaratilishi va ulardan samarali foydalanish usullari ishlab chiqilishi lozim.

Uchki meristema asosida sog'lomlashtirilgan o'simliklarni olish va ulardan yuqori sifatli urug'lik material yetishtirish uchun transplantasion qobiliyati yuqori va viruslar bilan qayta zararlanishga chidamli genotiplardan foydalanish yuqori samara beradi.

Tadqiqotlardan aniqlanishicha, tuganak o'simtasining eng uchki (0,1-0,3mm) qismi kartoshkani zararlovchi virus va bakteriyalardan holi ekanligi aniqlangan. O'simtaning bu qismini ajratib olib maxsus in vitro muhitida o'stirishning muvaffaqiyati uning tarkibi, usullari va ulardan to'g'ri foydalanish imkoniyatlarining ishlab chiqilishi bilan, ulardan olingan sog'lom o'simliklarni jadal ko'paytirish usullarining ishlab chiqilganligi bilan belgilanadi. Bu esa, o'z navbatida viruslardan holi urug'chilikning samarasini aniqlaydi.

Umuman kartoshka seleksiyasi va urug'chiligida biotexnologiyaning ilmiy asoslangan samarali usullarini ishlab chiqish, ekinning genetik potensialini boyitish, super elita va elita yetishtirish uchun sog'lom dastlabki materialni yaratish, kartoshka seleksiyasi va urug'chiligida katta ahamiyat kasb etadi va maxsulot yetishtirishni oshirishga va halqning ehtiyojini qondirishga xizmat qiladi.

Ushbu bitiruv – malakaviy ishda kartoshka seleksiyasida ekin genofondini boyitish, ulardan samarali foydalanish asosida qimmatli xo'jalik va morfobiologik xususiyatlarga ega ekin shakllarini yaratish, uchki meristema transplantantlarini olish, sun'iy oziqa muhitida o'stirish, jadal ko'paytirish va sog'lom o'simliklar olish hamda bu biotexnologik usulning o'simliklar genetik, biologik va fiziologik xususiyatlariga ta'siri

bilan birga urug'lik sifatlariga ta'siri to'g'risidagi adabiyotlar ma'lumotlarini tuplash, taxlil etish va umumlashtirish maqsadida ushbu bitiruv – malakaviy ishni bajardik.

1.ADABIYOTLAR SHARHI

1.1. Qishloq xujaligida biotexnologik usullardan foydalanishning istikbollari

Qishloq xo'jaligi va oziq-ovqat mahsulotlarining ishlab chiqarishni yuksaltirish tuproq, suv va energetik resurslar bilan belgilanadi. Bu sohadagi yutuqlar, jumladan madaniy o'simliklar, uy hayvonlari va mikroorganizmlarning biologik mahsuldorligini oshirish bilan bog'liq. Bu esa o'z navbatida tabiiy fanlarning rivojlanish darajasi bilan belgilanadi.

Keyingi paytda butun dunyoda bunday tadqiqotlar va fanlar orasida biotexnologik usullarning ahamiyati va hissasi ortmoqda. Bunday usullardan yangi navlar yaratish, sog'lomlashtirish va jadal ko'paytirish biotexnologiyaning asosiy yo'nalishlari hisoblanadi. (Bekker)

Tadqiqotlar asosay qishloq xo'jalik mahsulotlarini ko'paytirish, uning oziq-ovqat qiymatini yaxshilashga, o'simliklarning ekstremal faktorlarga, kasallik va zararkunandalarga chidamliligini oshirishga qaratilgan bo'lib bu asosan madaniy va yovvoyi o'simlik turlarida mavjud genetik resurslardan samarali foydalanish va gen injineriyasi usullardan foydalanib yangi genotiplarga ega o'simliklarning formalarini yaratish orqali amalga oshiriladi. (Samuilova V.D.)

Bundan tashqari, o'simlik hujayralari va to'qimalaridan yetishtirish yangi navlarni yaxshilashda yangi imkoniyatlar ochmoqda. (Gulyayev G.V)

O'simlikshunoslikda biotexnologik usullardan foydalanishning asosiy yo'nalishlarini quyida keltirib o'tishi lozim deb topdik.

Yangi navlar yaratish va o'simliklarning mahsuldorligini oshirish.

Osiyo va Lotin Amerikasida asosan bug'doy va sholining yangi navlaridan foydalanib qishloq xo'jalik ekinlarining hosildorligini keskin oshishiga olib kelgan 1960 – 1970 yillardagi tadbirlar yig'indisi "yashil revolyutsiya" deb nom olgan edi. Bu davrdagi seleksiya asosan duragaylash polipoidiya, mutasiyaga asoslangan bo'lsa hozir esa bu usul bilan birga zamonaviy biotexnologik usullardan foydalanish keng imkoniyatlar

ochmoqda. Ya'ni hujayralarga, protoplast to'qimalari ekinidan va gen injineriyasi usullaridan foydalanish ekinlarning biologik xilma-xilligini ta'minlovchi molekulyar va hujayra mexanizmlariga ta'sir ko'rsatish orqali amalga oshiriladi. (N.A.Xo'jamshukurov, 1985)

To'qima va hujayra "ekini" o'simliklar to'qimalari ekini mexanizmi 1937 yildayoq ishlab chiqilgan edi. Bu usul kichik inshootlarda qisqa muddat ichida cheklanmagan miqdorda o'simliklar klonlarini olish imkoniyatini beradi; bunday populyasiyalardan genetik xilma-xilligini ham kuzatish mumkin, masalan mutant formulalarini ulardan esa seleksiya maqsadlarida foydalanish mumkin. Bundan tashqari, bunday ekinlarda yuqori fotosintik qobiliyatga ega bo'lgan o'simlik formulalari ham olishi mumkin. 1949 yilda o'simliklarning meristema to'qimalaridan (uzunligi 0,1mmgacha qismi) virus, mikoplazma, zamburug' va bakteriya kasalliklaridan holi bo'lishi aniqlandi. Hozirgi vaqtda bu usulda chinnigul va kartoshkani viruslardan sog'lomlashtirishda 1970 yillardan buyon moyli palmani in vitroda bu usul bilan yetishtirilmoqda. Shuning uchun dunyoda palma moyi ishlab chiqarish 5 mln t/ga yetdi. Bu esa har yili 13,5 mln t/ga ishlab chiqariladigan soyaga nisbatan past bo'lib moyli ekinlar bo'yicha ikkinchi o'ringa chiqdi. (b.s.n.i ped) 155 bet (29). Buning uchun qilingan qo'shimcha 7-12 % xarajotlar hosildorlikni 20-30 % ga oshirish imkoniyatini berdi. (Liore, 1982y).

To'qima va hujayralarni in vitroda o'stirishda yuzaga kelishi mumkin bo'lgan o'zgaruvchanlik protoklonlash usuli bilan, ya'ni protoplastmalardan yangi o'simliklar olish bilan bartaraf qilinishi mumkinligi aniqlandi. (Pexov A.P, 2000)

Zamonaviy biotexnologiyani eng yangi yutuqlari qishloq xo'jalik ekinlarini yuqori hosildor, mahsulot sifati yaxshi, kasallik va zararkunandalarga chidamli navlarini yaratishga qaratilgan. Laboratoriya sharoitida to'qima kallus, hujayra miqyosida olib borilgan tadqiqotlar natijalarini dala sharoitida tekshirilishi va ishlab chiqarishga tadbiq etilishi esa qishloq xo'jalik samaradorligini keskin oshirish imkonini berdi. (Egamberdiyev A.E, 1984)

Ma'lumki tuproqdagi azot balansining saqlanishi, ayniqsa biologik faktorlar tomonidan sintez qilingan azotdan foydalanish tuproq ekologiyasini saqlashdan tashqari qishloq xo'jalik ekinlarini hosildorligini oshiruvchi omillardan biri bo'lib hisoblanadi.(Kondorosi E,)

Shuning uchun biotexnologiya yutuqlaridan foydalanish bu sohada quyidagi imkoniyatlarni beradi: azotofiksatorlarning potensial imkoniyatlarini oshirish; azot fiksasiyasi va assimilyasiyasini ularni nazorat qiluvchi genetik mexanizmlarga ta'sir ettirib oshirish; yangi azotofiksatorlarni yaratish. Ularning ekinlarini yangi navlari bilan somatik duragaylarini olish asosiyda samaradorligini oshirish va hokazo.

Umuman, tadqiqotlar shuni ko'rsatadiki genetikaga asoslangan tradision usullaridan tashqari zamonaviy biotexnologik usullardan ham foydalanish qishloq xo'jaligida yangi o'simliklar navlarini va hayvon zotlarini yaratishda istiqbolli yo'nalishlardan biri bo'lib xizmat qilishi mumkin.(TikshonenkoT.I.)

1.2. Usimlikshunoslikda gen muxandisligining moddiy asoslari.

Transformasiya xodisasining ochilishi gen muxandisligi biotexnologiyasida yangi bir erani boshlab berdi. Bu xodisa 1928 yil Griffiths tomonidan kashf etildi.

Transfurmasiya jarayoniga quyidagicha ta'rif berish mumkin. Ma'lum sharoitda bir organizm irsiy molekulasi har qanday bo'lagining ikkinchi organizm irsiy molekulasi tarkibiga birikish hodisasiga transformasiya deb ataladi. Gen muxandisligi usuli bilan organizmning irsiyatini o'zgartirishda transformasiya keng qo'llaniladi.(Ayala F.)

Griffiths transformasiya jarayonini o'z tajribasida quyidagicha izohlaydi. Patogen pnevmokokk bakteriyasining S-shtammi bilan zararlantirilgan sichqop o'ladi. Ushbu bakterianing nopatogen shtammi R-shtammi bilan zararlantirilgan sichqon tirik qoladi. Patogen S-shtammi qizdirish yo'li bilan o'ldirib bakterianing nopatogen R-shtammi bilan zararlantirilgan sichqon tirik qoladi. O'ldirilgan S-shtammini tirik R-shtammi bilan

aralashtirib sichqonga yuborilganda sichqon o'ladi. Uning konidan tirik S-shtammi topilgan. Bundan ko'rniib turibdiki o'ldirilgan S-shtammi irsiy molekulasidagi kasallik chakaruvchi gen tirik R-shtammi irsiyatiga o'tgan va uving irsiyatini S-shtammiga xos o'zgartirgan, ya'ni transformasiya qilgan.(A.G.Lobanka.)

Trangduksiya hodlsasi bakteriya va ularning faglari o'rtasida sodlr bo'ladi. Maxsus tuzilishga ega bo'lga DNK bo'lagining xromosoma bilan birikishi va undan ajralib chiqish jarayoniga transduksiya deb ataladi. Transduksiya AQSh olimi Lvov tomonidan 1953 yllda kashf etilgan. Bu kashfiyotga qadar bakteriya hujayrasiga faglar (viruslarning bakteriya hujayrasida ko'payadigan xili) kirganda ularning hujayrada ko'payishi va oqibatda bakteriya yorilib o'lishi malum edi. Fag bilan zararlangan bakteriya koloniyasi yo'qoladi, ya'ni lizis bo'ladi. Shu sababli bu jarayon faglarning litik reaksiyasi deb ataladi. Ayni paytda fag bilam zararlangan bakteriya hujayralarining ayrimlari ofatdam qutilib qolishi kuzatilgan. Bunday hujayra ichiga tushgan fagning irsiy molekulasi bakteriya xromosomasining maxsus nukleotidlari izchilligini kesib birikishi natijasida faol ho tatdan ko'laya olmaydkgan, ya'ni bakteriyanl lizis qila olmaydiga nafaol profag holatiga o'tadi. Buning natijasida bakteriya hujayrasi ofatdan qutiladi. Ofatdan qutilgan bakteriya lizogen bakteriya, bu jarayon esa lizogen reaksiyasi deb ataladi. Lizogen bakteriyalar spontan ravishda, ya'ni o'z-o'zidan yoki fizik-kimyoviy ta'sir natijasila fag irsiy molekulasi ajralib chiqib muhitdagi boshqa bakteriyanl zararlantiradi va nihoyag, ularni o'ldiradi yoki ayrim hollarda bakteriya xromosomasi bilan birikib profag holatiga o'tadi.(Jukovski P.M., Grin N.,)

Transduksiya jarayonida Ye.coli bakteriya xromosomasi va l fag irsiy molskulalarining o'zaro bog'lanishi yoki rekombinasiyallanishi mokulyar jihatdan quyidagicha kechadi. Lekin l fag transduksiyas har doim bu darajada aniq amalga oshmaydi. Profag holatida l fag bakteriya genomidan ayrim genlarni hatto 3 ta struktura gen va promotordan iborat laktoza operonini (operon o'zaro bog'liq holdagi transkripsiyallanuvchi va regulyator element vositasida idora qilinuvchi genlar izchilligi) biriktirilgan holda ajralishi kuzagilgan, Bunday rekombinant l fag bilan Ye.coli ning 1as - shtammi, ya'ni laktozani parchalovchi geni mutasiya natijasida ishlamaydigan shtammi zararlantirilsa,

transduksiya natijasida $1as^-$ pggamm lizogen $1as^+$ shtammga aylanadi. Demak, fag $1as^+$ shtammdan laktoza parchalovchi operonni $1as^-$ shtammga transluksiya qiladi.(Alberts B.)

Fag irsiy molekulasida bakteriya xromosomasini nukleotidlar kstma-ketligini aniq tanib yopishqoq uchlar hosil qilib qirquvchi *integraza* fermentining genlari mavjud. Ushbu ferment yordamida fag irsiy molekulasida bakteriya xromosomasiga o'rnashadi va DNK-ligaza fermenti yordamida uning tarkibiy qismi sifatida to'la biriktiriladi.(Grin N., Dospexov B.A)

Ko'chib yuruvchi genetik elementlar – transpozonlarni. O'simliklar organizmida transpozonlarni birinchi bor AQSh olimasi Barbara Mak Klintok, mikroorganizmlarda AQSh olimi Axmad Buxoriy va hasharotlarda Rossiya olimi Georgiy Georgiyev kashf etgan. Ko'chib yuruvchi genetik elementlar ayni vaqtda transpozision elementlar yoki transpozonlar deb ham ataladi. Transpozonlarning kashf etalishi genetik muxandislikning rivojlanishida muhim ahamiyatga ega bo'ldi. Transpozonlar xilma-xil strukturaga ega bo'lsalarda, barcha transpozon molekulalarining ikki chetida maxsus nukleotidlar izchilligi, markaziy qismda esa DNK molekulasiining belgilangan joyida "yopishqoq" uchlar hosil qilib notekis kesuvchi transpozaza fermentini sintez qiluvchi gen mavjuddir. Transpozaza fermenti hujayradagi DNK molekulasini " yopishqoq" uchlar hosil qilib kesadi va ayni paytda transpozon uchlariga qovushtiradi. Hosil bo'lgan xromosoma DNK si va transpozon DNK sidan iborat qovushma hujayra DNK bo'laklarini bog'lovchi ferment ligaza ta'sirida o'zaro bog'lanadi.(N.A.Xo'jamshukurov, Ostonaqulov T.E.)

Transpozonlarning hujayra DNKsiga integrasiyasi quyidagicha amalga oshadi. Transpozonlar xromosomada o'z o'rnini o'zgartirganda irsiyat ham o'zgaradi. Odatda yashash muhiti keskin o'zgarganda transpozonlarning ko'chib yurishi ortadi. Shu sababdan ko'chib yuruvchi genetik elementlar ishtirokida gen muxandisligiga asoslangan ko'pgina biotexnologik jarayonlar yaratilgan.

Bakteriya va tuban eukariot organizmlar hujayralarida asosiy xromosomadan tashqari, kichik o'lchamga ega bo'lgan halqasimon yoki chiziqsimon strukturaga ega bo'lgan qo'shimcha xromosomalar mavjuddir. Bu mini-xromosomalar plazmidalar deb

ataladi. Plazmida DNKasi ko'pi bilan 3-10 tagacha genlarni o'zida saqlaydi. Bu genlar, asosan antibiotik yoki zaharli toksinlarni parchalovchi fermentlarni sinteziga javobgardir. Shu tufayli plazmidalar bakteriya, achitqi va zamburug'larning antibiotik va zaharli toksinlarga chidamliligini ta'minlaydi. (Laptev Yu.G., R. Artikova)

Plazmidaning antabiotik parchalovchi genlari bir plazmidadan ikkinchisiga transpozonlar bilam birikkan holatda ham ko'chib o'ta oladi. Bu molekulyar jarayon kasal chaqiruvchi mikroblarshshg antibiotiklarga chidamliligini nihoyatda oshiradi. Plazmidalar o'z xususiyatiga ko'ra ikkiga bo'linadi. Birinchisi, transpozon yoki bakteriofag irsiy molekulasi kabi hujayra asosiy xromosomasining maxsus DNK izchilligini kesib, rekombinasiya bo'la oladigan plazmidalar. Bunday rekombinasiyalanuvchi plazmidalar transmissibl, ya'ni nasldan-naslga o'tuvchi plazmidalar deb ataladi. Transmissibl plazmida asosiy xromosomaga birikkandan keyin o'z mustaqilligini yo'qotadi. Asosiy xromosomadan mustaqil ravishda o'z-o'zini replikasiya qila olmaydi. Ayni paytda bunday plazmidalarda joylashgan genlar asosiy xromosomada o'z faoliyatini bajaradi. Hujayra bo'linganda rekombinasiyalanuvchi plazmida genlari asosiy xromosoma genlari birikkan holda nasldan-naslga beriladi. Ikkinchi toifa plazmidalar avtonom holda replikasiyalanuvchi plazmidalar deb ataladi. Bunday plazmidalar asosiy xromosomaga birika olmaydi, asosiy xromosomalardan mustaqil ravishda o'z-o'zini *replikasiya* yo'li bilan o'nlab va hatto yuzlab marta ko'paytira oladi. *Avtonom* plazmidalar bakteriya yoki zamburug' hujayrasi bo'linganda qiz hujayralar orasida tasodifiy ravishda taqsimlanadi. Shu bilan birga avtonom plazmida bir hujayradan ikkinchi hujayraga, hujayra qobig'i va membranasining teshikchalari (pora) orqali o'ta oladi. (Egamberdiyev A.E., To'raqulov Ye.X)

Tabiatda biror mikroorganizm hujayrasiga tashqaridan yot genetik material kirsam, u darhol hujayradagi nukleaza fermentlari ishtirokida parchalab tashlanadi. (Slyusaryov A.A.)

DNK molekulasini mayda bo'laklarga buluvchi fermentlar ***endonukleazalar*** yoki ***restriktazalar*** deb ataladi. Har bir restriktaza to'rt yoki ko'proq maxsus nukleotid juftlarni tanib olib boklanadi va DNK molekulasini kesadi. Ayrim restriktazalar DNK qo'sh zanjirini qaychi singari shartta ikki bo'lakka bo'ladi. Bunday restriktazalarga

A1u I, Vga I, Naye III, Nra I, YesoKV, Ninc II, Pvu II, Rsa I, Ssa I, Sma I va boshqalarini misol qilib keltirish mumkin.(Laptev Yu.G)

Shu bilan birga, qo'sh zanjir DNK molekulasini "yopishqoq" uchlar hosil qilib kesuvchi restriktazalar ham mavjud (Aat II, Ass III, Ara I, Vam HI, Yeso RI, Nind III va boshqalar). Bu restriktazalar vazifasi jihatdan transpozazaga o'xshashligi ko'rinib guribdi. Shuning uchun ham bu restriktazalar hosil qilgan "yopishqoq" uchlardan foydalanib, har xil DNK bo'laklarini bir-biriga bog'lash soddalashadi. Ana shu xususiyati tufayli bu xil restriktazalar gen muxandisligida keng qo'llaniladi. Hozirgi kungacha 500 dan ortiq xilma xil restriktazalar tozalanib olingan va o'rganilgan. (Jukovski P.M.)

Odatda mikroorganizm irsiy moddasining xromosomasi bir nechta million nukleotid juftlari izchilligidan iborat. O'simlik yoki hayvon genomi bir necha yuz milliondan to 1 milliardgacha nukleotid juftlari izchilligidan tuzilgan. Bunday buyuk molekulani yuqorida qayd qilingan xilma-xil restriksion endonukleazalar ishtirokida ko'plab parchalarga bo'lish mumkin. Endonukleaza ishpokida parchalangan DNK bo'laklari *elektroforez* moslamasida maxsus molekulyar "elak" teshiklaridai yuqori kuchlanishli elektr maydoni ta'sirida molekulaning zaryadi va o'lchamiga binoan ajratiladi. DNK bo'laklarini maxsus bo'yoq bilan bo'yash natijasida ultra binafsha nurlari yordamida oddiy ko'z bilan ko'riladi. DNK ning mayda bo'laklari elektr maydonida gel kovaklaridan yirik bo'laklarga nisbatan tez harakat qilgani uchun ularning startdan bosib o'tgan masofasini o'lchab DNK bo'lagining katta kichikligi aniqlanadi. Elektroforez moslamasida bir-biridan faqat bir nukleotid kam yoki ko'pligi bilan farqlanuvchi DNK bo'laklarini ajratish mumkin.(Alberts B.)

Restriksion endonukleaza fermentlarining ochilishi va elektroforez moslamasida DNK bo'laklarini o'ta aniqlik bilan bir-biridan ajratishning takomillashuvi gigant DNK molekulasidan istalgan DNK bo'lagini ajratib olish imkonini beradi.(Gilbert S)

Xulosa qilib aytganimizda, gen muxandisligi biotexnologiyasining moddiy asoslariga bakteriyalarni klonlash, transformasiya va transduksiya jarayonlari, transnozollar, plazmidalar va restriksion endonukleaza fermentlarini to'la fundamenal asoslarini

o'rganish kiradi. Yuqorida qayd qilingan biologik faol moddalar gen muxandisligi biotexnologiyasining amaliy jarayonlarida o'ta qimmatli omil hisoblanadi.

1.3. Seleksiyada foydalaniladigan biotexnologik usullarning imkoniyatlari

1.3.1. Gen va hujayra muxandisligi

So'ngi 10 yil mobaynida gen muxandisligi biotexnologiyasiga asoslangan metodologiya o'simlik seleksiyasida katta burilish yasadi. Har xil turga mansub o'simlik hujayralarini qo'shib yangi o'simlik turlari yaratish biotexnologiyasi ishlab chiqildi. Bu texnologiya tez kunda o'zining istiqboli cheksiz ekanligini namoyon qildi. Natijada tadqiqotchilar hujayra genotipini qayta tuzish va genotipga maqsadga muvofiq yot genlar kiritish evaziga hujayra irsiyatini o'zgartirish imkoniyatiga ega bo'ldilar. Irsiyati o'zgartirilgan o'simliklardan va o'simliklarning har qanday hujayrasidan sun'iy sharoitda yetuk organizm yaratish biotexnologiyasi ishlab chiqildi. (Beker M.Ye, Jukovskiy P.M.)

Ostonaqulov T.E fikricha, klassik genetika usuli bilan irsiyatni o'zgartirishning asosiy kamchiligi ikki genotip chatishtirilganda ularning barcha xo'jalik uchun molik va molik emas genlari o'zaro rekombinasiyalanishidir. Natijada yaratilgan navga genetik tadqiqotchi istagan gendan tashqari, navning xususiyatini buzuvchi ko'pdan ko'p genlar ham o'tadi.

Gen muxandisligi usulini qo'llaganda bu muammo yengil xal qilinadi. Buning uchun takomillashtirilayotgan o'simlik navi hujayrasiga qimmatbaho sifatli gen kiritiladi va bu hujayradan yetuk o'simlik olinadi. Muayyan bir genni o'simlik hujayrasiga kiritish plazmida vektorlari yordamida amalga oshiriladi. Hozirgi kunda o'simlikshunoslikda bunday vektor vazifasini agrobakteriyaning Ti plazmidasi o'tamoqda. Tabiatda agrobakteriyaning Ti plazmidasi saqlovchi turi o'simlikni zararlantiradi. Zararlangan o'simlik tanasidagi hujayralar palapartish bo'linishi natijasida shish hosil bo'ladi. Bu

shishni Ti plazmada genomining tDNK bo'lagi chaqiradi. Buning sababi tDNK ning o'simlik hujayrasi genomiga birikishi va uning xususiyatini buzishidir. tDNKning bu xususiyatidan gen muxandisligida keng foydalannadi. (R. Artikova, Laptev Yu.G.)

N.A.Xo'jamshukurov ma'lumotlari buyicha, usimlik irsiyatini gen muxandislik usuli bilan o'zgartirish uchun plazmidaning tDNK qismi restriktaza bilan kesib olinadi va rVK 322 plazmidasi bilan biriktirilib klonlanadi. Yaratilgan sun'iy plazmada vektor konstruksiya deb ataladi. Vektor konstruksiyaning tDNK qismiga xo'jalik ahamiyati uchun qimmatli bo'lgan o'simlik geni ko'chirib o'tkaziladi. Natijada tDNK shish chaqirish qobiliyatini yo'qotadi, chunki yot gen tDNKni ikki bo'lakka bo'lib yuborgan. Tarkibida tDNK va yot genga ega vektor konstruksiya o'simlik protoplastiga kiritilib xromosoma DNKsiga birikishi natijasida yot gen o'simlik irsiyatiga o'tkaziladi. So'nggi yillarda vektor molekula tarkibiga kiritilgan yot genlarni o'ta kuchli elektr maydoni ta'sirida yoki maxsus gen otuvchi zambarak vositasida o'simlik yoki hayvon hujayrasiga kiritish usullari ishlab chiqilgan. Lekin bu usullar texnik jixatdan murakkab va qimmat bo'lganligi sababli maxsus hollardagina ishlatiladi. Genetik transformasiya qilingan o'simlik hujayrasidan transgen o'simlik olinadi. (R. Artikova,)

Transformasiya qilingan o'simlik hujayrasi bo'linishi natijlsida. ma'lum bir programma bo'yicha rivojlanmaydigan hujayralar to'plami hossh bo'ladi. Bunday to'plam kallus to'qima deb ataladi. Kallus to'qima hujayralaridan ayrimlari o'simlik gormoni va boshqa rsgulyator moddalar ta'sirida ma'lum programma bo'yicha bo'lina. boshlaydi. Natijada bunday hujayralardan bosqichma-bosqich o'simlik embrion to'qimasi va barcha jihatdan normal, voyaga yetgan transgen o'simlik olinadi. Transgen o'simlikning har bir hujayrasi xromosomasida ko'chirib o'tkazilgan gen gaqlanadi. Shu sababdan transgen o'simlik jinsiy yo'l bilan ko'paytirilanda yot gen nasldan - naslga beriladi. Gen muxandisligidan foydalangan holda hozirgi kunda ko'sak qurtiga chidamli g'o'za va kolorada qo'ng'iziga chidamli kartoshka o'simligi yetishtirilgan.

O'zbskiston Fanlar Akademiyasi qoshidagi mikrobiologiya ilmiy tekshirish instituti olimlari professor T.Yu.Yusupov raxbarligi ostida gen muxandisligi biotexnologiyasi

uslublaridan foydalangan holda *Vas.thuringiensis* entomopatogen bakteriyasi asosida ekologik toza mikrob insektisid moddalari yaratilgan va uning rekombinant DNK (rSaVItoxpeo; rGNm2toxpeo) shaklida klonlangan genlarini g'o'za va mosh o'simligiga o'tkazib zararkunanda hasharotlarga bardoshli transgen o'simlik formalari olingan.

Bu olimlar guruxi dunyoda birinchi bo'lib insektisi oqsillar genini saqlovchi rGH2toxpeo bifunksional rekombinant plazmidani g'o'za o'simligiga o'tkazish uchun "chang-plazmida" suspenziyasini resipiyent-o'simliklarning (*G. hirsutum* L.108-F navi; *G. barbadense* L.6037 navi) onalik organlariga tabiiy chatishtirish uslubi yordamida transformasiya qilish texnologiyasini ishlab chiqdi. Olingan ilmiy amaliy natajalar resipiyent-o'simlik guli changidan ekzogen DNKni o'simlik hujayrasiga transformasiya qilishda foydalanish mumkinligini tasdiqlaydi. (To'raqulov Ye.X.)

Ushbu gurux olimlari tashabbusi bilan mosh o'simligi ildizi va tuganaklarini zararkunanda xasharotlardan ximoya qilish maqsadida simbiotik guganak bakteriyalar ining tox-gen saqlovchi transformant MTL-12; MTL-17 shtammalari olindi. Olingan transformant shtammalar yordamida mosh o'simligiga inokulyasiya qilindi va xasharotlarga chidamli yangi o'simlik formalari yaratildi. Transformant shtammalarning xasharot lichinkalariga nisbatan qo'lanilganp 10^8 ml/ hujayra miqdoridagi suspenziyasi 60-95% | gacha insektisid faollikka ega ekanligi isbotlandi. (Pexov A.P., Laptev Yu.G)

Mazkur yo'nalishdagi ilmiy izlanishlar genetika va o'simliklar eksperimental biologiyasi institutida akademik A.A.Abdukarimov (2011) xabarligida keng ko'lamda amalga oshirilmoqda va xalq xo'jaligida o'zining qo'llanilish istiqbollari namoyon qilmoqda.

Keyingi vaqtlarda hujayra muxandisligini qo'llanish natijasida hayvonlarning klonini olish biotexnologiyasi yaratildi. Yuqorida keltirilishicha, klon iborasi, asosan bir bakteriya hujayrasi bo'linishi natijasida hosil bo'lgan, irsiyati miqdor va sifat jixatidan bir xil teng bo'lgan bakteriya koloniyasi yoki aynan bir gendan ko'chirib olingan gen nusxalari yig'indisini ifodalash uchun ishlatiladi. (Dospexov B.A)

Yuksak hayvonlar vegetativ yo'l bilan ko'paymasligi sababli ularning klonlarini olish yaqin yillargacha muammo bo'lib kelar edi. 1977 yilda ingliz olimi J.Gerdon tomonidan hujayra muxandisligi usulini qo'llanishi natijasida yuksak hayvonlar klonlaryani yaratish biotexnologiyasi ishlab chiqildi. (Grin N.)

So'nggi yillarda eng ijobiy ko'rsatkichga ega bo'lgan qoramol tuxum hujayrasini sun'iy sharoitda urug'lantirilgandan keyin zotsiz qoramolga ko'chirib o'tkazish yo'li bilan zotli qoramol klonini yaratish biotexnologiyasi amaliy samara berdi. (Pexov A.P)

Molekulyar genetika, hujayra muxandisligi xamda gen muxandisligi fanlarining rivojlani shi biotexnologiya fanining istiqbolshsh yana xam oshirdi. Natijada tadqiqotchilar hujayra genotipini qayta tuzish va genotipga, maqsadga muvofiq yot gsnlar kiritish evaziga hujayra irsiyatini o'zgartirish imkoniyatiga ega bo'ldilar. Irsiyati o'zgartirilgan hayvon tuxum hujayrasidan sun'iy sharoitda yetuk organizm yaratish biotexnologiyasi ishlab chiqildi. Nrsiy kasallik keltirib chiqaruvchi genlarning izlab topish, ajratib olib o'rganish, ularni sog'lom genlar bilan al-mashtnrmsh evaziga irsiy sog'lom hayvonlar turini yaratashdek o'ta qimmatli texnologiya vujudga keldi. (Dospexov B.A.)

Hayvon organizmini transformasiya qilish va bu jarayonda ishlatiladigan markerlar tizimi ishlab chiqildi. Hayvon virus-lari asosidagi vektor molekulalar konstruksiyalari yaratildi. Hayvon organizmiga genlarni kiritish va gen terapiyasining ko'pgina muammolari yechildi. Rekombinant DNK olish texnologiyasi-dan foydalanib gormon moddalarni mikrobiologik sintez qilish, tez rivojlanuvchi transgen hayvon olish, rekombinant DNKni zigotalarga kiritish, yadroni klonlash texnologiyalari yaratildi. (Beker M.Ye.)

Gen muxandisligi usullari yordamida virus va boshqa mikrob vaksinalari va diagnostikumlar xamda patogen omillarga chidam-lilikning yangi shaklini yaratish muammolari xal qilindi. Hayvonlar ichak bo'shlig'i mikroflorasida almashinmaydigan amino-kislotalar, fermentlar va vitaminlar sintezini kuchaytarish uchun yangi genlar klonlandi va hayvon organizmiga transformasiya qilindi. (Pexov A.P)

Xulosa qiladigan bo'lsak, tadqiqotchilar o'simlikchilik va chorvachilikda gen va hujayra muxandisligi uslublaridan foydalanib, hujayra genotipini qayta tuzish, genotipga maqsadga muvofiq genlar kiritish evaziga hujayra irsiyatini o'zgartirish im-

koniyatiga ega bo'ldilar. Hozirgi kunda O'zbekistonda g'o'za va boshqa o'simliklarning zararkunandalarga chidamli formalari olingan.

Hujayra muxandisligini qo'llanilishi natajasida hayvonlarning klonlarini olish biotexnologiyasi yaratilgan, hayvon tuxum hujayrasidan sun'iy sharoitda yetuk organizm yaratish biotexnologiyasi ishlab chiqilgan. Irsiy kasallik keltirib chiqaruvchi genlarni izlab topish, ajratib olib o'rganish, ularni sog'lom genlar bilan almashtarish evaziga o'ta qimmatli biotexnologiya vujudga keldi.

1.3.2. Monogaploidlar va changdon ekini olish.

Monogaploidlar kartoshka xromasoma to'plamini diploid ($2n=24$) sonini ikki karra kamaytirish ($2n=12$) orqali olinadi.

Monogaploidlarni olishning ikki usuli ishlab chiqilgan bo'lib, bular megasporalarni digaploidlar changchi bilan changlash orqali indusirlashgan holatda rivojlantirish (partenogenez va ginogenez) orqali yoki mikrosporalarning regenerasiyasi orqali (androgenez) orqali olish mumkin. (Adams va boshqalar - 1989, Anderson va boshq. - 2001, Anon-2011).

Monogaploid o'zlaridagi katta genetik o'zgarishlar tufayli hosil bo'ladigan xilma-xilliklar bilan harakterlanadi. Ulardan seleksiyada gomozigota shakllar sifatida to'g'ridan – to'g'ri tanlash va generativurug'larni olish uchun ota-ona shakllari sifatida foydalanish mumkin. (Pexov A.P, Sheveluxi B.C.)

Bundan tashqari, seleksiya amaliyotida monogaploidlardan geterozigota diploidlarni yaratish uchun gomozigota diploidlarini interkross usulida yaratishda foydalanish yaxshi samara berishi aniqlangan. Geterozigota diploidlari maksimal geterozigotalarni olishda foydalaniladigan tetraploid shakllarni yaratishda muhim bosqich bo'lib hisoblanadi.

Lekin shuni ham ta'kidlash kerakki, bunday shakllarni olish ko'p omillarga bog'liq. Masalan, seleksiyada foydalaniladigan bunday ko'p sonli genotiplarning regenerasion qobiliyati, gomozigota diploidlarni yaratishdagi qiyinchiliklar, ularning o'zaro qo'shilish imkoniyati va boshqalar. Hozirgacha bu muammolar to'liq yechilmagan hisoblanadi.

Tabiatda birinchi kartoshkaning monogaploid shakli *S. tuberosum* turida Berike va Frandzem tomonidan olingan. (Loesch-Fries L.S, KraumaufR).

Changdonda mikrosporaning regenerasiyasi keltirilgan. Keyingi tadqiqotlarning ko'rsatishicha ginogenez androgenezga nisbatan kamroq samarali hisoblanadi. (Jukes T.)

Changdon ekini Muresige – Skuga, Irikura va Sakagutilar tomonidan changlarni maxsus ozuqa muhitida o'stirish orqali yaratishga muvaffaq bo'ldilar.

Ular tomonidan kartoshkaning yovvoyi va madaniy diploid turlaridan 350 ta monoploid, diploid, tetraploid va aneuploid shakllar olingan.

Keyinchalik esa ba'zi tadqiqotchilar tomonidan androgenez usulida monogaploid va diploid shakllar yaratilgan. (Artikova R.)

Monogaploidlarni androgenez va ginogenez usulida yaratish quyidagicha amalga oshiriladi: bir yadroli changi mavjud bo'lgan, uzunligi 4-5mm bo'lgan gulg'unchalar gullash induksiyasi uchun Mursige-Skuga ozuqa muhitiga o'tkaziladi. Taxminan bir oy davomida undan mikroskopik struktura – embrioidlar shakllanadi. Ularni diferensiasiya uchun tarkibida 10% kokos suti, 0,3 mg l⁻¹ miqdorda zeatin va 3% li saharoza eritmasi bo'lgan Mursige-Skuga o'zuqa muhitiga ko'chirib o'tkaziladi. Morfogenez jarayonining boshlanishi bilan bu to'qima yangi ozuqa muhitiga ko'chirib o'tkaziladi.

Bu usulda monogaploidlarni olishning muvaffaqiyati ko'p jihatdan genotiplarning regenerasiya qobiliyatiga bog'liq. Bunday qobiliyatni kuchaytirish uchun kuchsiz regenerativ xususiyati bo'lgan genotiplar bilan bunday qobiliyati kuchli genotiplarni muhitda chatishtirish orqali erishish mumkin. (Tikshonenko T.I.)

Tajribalarda Urig suyuq ozuqa muhitida genotiplarning regenerasion qobiliyati kuchayishi mumkinligini aniqlagan.

Changdon ekini orqali olingan monogaploidlarning (xromasoma soni $2n=12$) juda kam qismi kuchsiz va steril bo'lishi aniqlangan bo'lib, ularni kolxisin bilan ishlash ham yaxshi samara bermagan.

Keyinchalik Vensel tomonidan monogaploidlarni chatishtirish orqali fertil duragaylari yetishtirilgan. (Egamberdiyev A.E.)

1.3.3. Xujayralarni duragaylash

Nechaming yillardan beri inson uchun zarur bo'lgan oziq ovqat maxsulotlarini olishda ananaviy biotexnologiyadan foydalanib kelingan. Hozirgi vaqtda rivojlanib borayotgan biotexnologiyaning yangi bosqichining mukammalashib borishi bilangina emas balki yangilarishshg paydo bo'lishi bilan ham bog'iqlikdir. Hayvon, o'simlik va mikroorganizmlarning organ, to'qima va hujayralarining o'stirilishi yangi biotexnologiyaning obyekti bo'lib qoldi.

Hujayra biotexnologiyasi hujayra, to'qima va protoplastlarning kulturalari-dan foydalanishga asoslangan. Hujayralarning manipulyadiyasi uchun, ularni o'simliklardan ajratib olib, o'simlik organizmidan tashqarida yashab kupayishi uchun zarur sharoit yaratish lozim.(Artikova R., Mishustin Ye.)

Ajratilgan hujayra va to'qimalarni suniiy ozuqa muhitlarda steril sharoitda o'sgirish usuli ajratilgan In vitro to'qimalar kulturasida deb ataladi.

Ajratilgan hujayra va to'qimalar kulturasining biotexnologiyadagi ahamiyatini uchta yo'nalishda ko'rish mumkin. Birinchi yo'nalish o'simlik hujayralarining medisina, parfyumeriya va kosmetika uchun zarur bo'lgan mahsulotlar, xalq xo'jaligining boshqa-tarmoqlari uchun ikkilamchi sintez moddalar, steroidlar, glikozidlar, garmonlar, efir yog'larini ishlab chiqarish bilan bog'liq.. (Ikkilamchi moddalar ozuqa muhitlarda o'stirilgan kallus tuqimalaridan olinadi).(Ostonaqulov T.E., Vovkogan V. G.)

Ikkinchi yo'nalish - ajratilgan to'qima kulturalarini ko'paytirish va virusdan holi ekish materiali olishda foydalaniladi. Bu usul o'simliklarni klonal mikroko'paytirish deyiladi, bir yilda bitta merestemadan minglab o'simliklar olish imkoniyatini beradi..

Uchinchi yo'nalish-alohida hujayralarni o'simliklar seleksiyasida qo'llashdir. Bunda tez rivojlanuvchi noqulay tashqi faktorlarga: Qo'rg'ochilikka, sho'r tuproqqa, past va yuqori haroratga chidamli o'simliklar olishda foydalaniladi. Shu bilan birga bu yo'nalish izolyaslangan protoplastlarni bir biriga qo'shib somatik duragaylar olish yo'li bilan yangi o'simliklarni yaragish imkonini beradi. Gen muxandisligi usullari yordamida izolyaslangan protoplastlarga begona genlarni kiritish, keyinchalik yangi

xususiyatli o'simliklar olish, ajratilgan changdon va urug'murtaklarni sun'iy muhitda o'stirib gaploidlar olish mumkin.(Pexov A.P, Kavzina L. I)

Hujayra to'qimalari kulturasini qo'llashda yutuqlarga erishish uchun bnrlchi navbatda fiziologik jarayonlarning optimizasiyasini, hujayralarling normal bo'linishini, ularning diferensirovkasini va ulardan butun o'simlik regenerasiyasini ta'mllash zarur.(Klausner A., Lapinskas E.)

2. Keyingi 20 yil moboynda orgaya, to'qima va protoplastlarni sun'iy sharoitda o'stirish uslublari ishlab chiqildi va takomillashtirildi. Shu yo'sinda o'stirilgan kallus kulturalaridan bir qancha transgen formalar olindi va hozirgi kuida xalq xo'jaligida keng ko'lamda ishlatilmoqda. Bu jarayonni amalga oshirish uchul amalyotchi avvalom bor tajriba manbaini va ishlatiladigan asbob uskunalarni to'la sterillashga erishlshi lozim.

Biologik manbalarll sterillashni 5 ta usuli mavjud:

1.Namlik, issqlik yoki issiq suv bug'i yo'li bilan sterilizasiyalash. Bunda o'suvchi (vegitativ) hujayralar 60-70°S haroratda 5-10 daqiqa davomida sterillansa sporalarni yo'qotish uchun 120-130°S 30 daqiqa, 1 atosfera bosim bilan ta'sir etish kerak. Bunday sterllash maxsus qurilma avtoklavda bajariladl. Bu usul yordamida tajriba idishlari, tayyorlanadigan ozuqa muhitlari sterillanadi.

2.Quruq issiqlik ta'sirida sterillash, Bunday sterillash quritish shkaflarpda amalga olshrlladl. Bunda 160°S haroratda 2 soat (bu haroratda paxta yoki qo'g'oz kuymaydi) yoki 180°S haroratda 30 daqiqada sterillanadi.

3.Fil'trasiya yo'li bllan sterillash. Termik ishlovga chidamsiz biologik faol moddalarni sterllash, filtrlash usuli yordamllda amalga oshlrlladl. Bunda asosan bakteriya va virus zarrachalarini ushlab qoluvchi filtrlardan foydalaniladi.

3.Nur ta'sirida sterillash (ultrabinafsha va radioaktiv nurlar)

5.Kimyoviy sterillashga etilen oksidi, β -propolaktan, dietilpirokarbonat, spirt, AgO_3 , kalsiy gipoxlorid, kislotalar bilan sterillash kiradi.

O'simlikdan ajratilgan hujayra va to'qimalar o'stiriladigan ozuqa muhitida o'simliklarni o'sishi uchun kerakli bo'ladigan hamma makroelementlardan: azot, fosfor, kaliy, kalsiy, oltingugurt, magniy, temir, mikrolemeptlardan: bor, rux, mis, kobalt, marganes, yod molibden, shuningdek vitaminlar, ugelevodlar, fitogarmonlar bo'lishi kerak. Ba'zi

ozuqa muhitlari tarkibida esa kazeii gidrolizati va ba'zi aminokislotalar bo'lishi kerak. Bundan tashqari, ozuqa muhiti tarkibiga, hujayralarning temirga bo'lgan talabini turli rN kursatkichlarida qoldirish uchun EDTA (etilendiamin-tetrasirka kislota) yoki uning natriyli tuzi kiritilishi kerak. Ajratilgan hujayra va tuqimalar o'stiriladigan ozuqa muhitining asosiy tarkibiy qismini uglevodlar tashkil qiladi, chunki hujayra va to'qimalar avtotrof ozuqalanish qobiliyatiga ega emas. Ko'pincha uglevod manbai sifatida saharoza yoki glyukozaning 20-40g/l miqdori qo'llaniladi. Uglevodli ozuqa manbai sifatida polisaxaridlar ishlatilmaydi, chunki ba'zi to'qimalar asosan o'smalar aktiv gidrolitik fermentlarga, (amilaza va boshqalar) ega bulib, kraxmal eritmasi bor ozuqa muhitlarida o'sishi mumkin. O'sish regulyatorlari hujayralar dedef ferensirovkasi va hujayra to'qimalari iidsiysiyasi uchun zarurdir. Shuning uchun kallasli tuqimalar olishda ozuqa muhitlari tarkibiga auksin (hujayra dedifferensi rovkasini yuzaga keltiruvchilar) va sitokininni (dedifferensiiallangan hujayra larning bo'linishini induksiyaalovchi) kiritish kerak. Poya morfogenezi induksiysida ozuqa muhiti tarkibida auksinning miqdori kamroq bo'lishi yoki umuman bo'lmagligi mumkin. Ikkala garmonlarga yoki ularning bittasiga nisbatan avtonomlik shu hujayra larning garmon ishlab chiqarish qobilyatiga **bog'liq. Auksin manbai sifatida** ozuqa muhitlarda 2,4 dixlorfenoksisirka kislota (2,4-D) % 1-10 mg/ml; indolilsirka kislota (ISK)-1-30 mg/l, b-naftilsirka kislota (NSK)-0,1-2,0 mg/l, kabilar ishlatiladi. Ko'pincha 2,4-D ishlatiladi, (NSK) 2,4-D ga nisbatan 30 marta kam aktivlikka egadir. Kallusning rivojmanishi uchun ko'pincha auksinning yuqori miqdori, ishlatiladi, to'qima keyingi qayta ekilganida auksinning miqdori bir necha marta kam bo'lganda ham to'qima o'sishi davom etaveradi. Sun'ny ozuqa muhitlarida sitokinin manbai sifatida kinetii, 6-benzil aminopurin (6-BAP) va zeatin (0,001-10mg/l) qo'llaniladi. Ajratilgan to'qimalar ning o'sishida va orgonogenezi induksiysida 6-BAP kinetinga nisbatan yuqori aktivlikni namoyon kiladi. Ba'zi ozuqa muhitlari tarkibiga adenin kiradi. Dospexov B.A fikricha, auksii va sitoknnilardan tashqari ba'zi ozuqa muhitlari tarkibida gibberil kislota (GK) tutadi. Ozuqa muhitida GKniig bo'lishi shart bo'lmasa ham, ba'zi hollarda u izolyasiyalangan tuqimalarning o'sishini tezlashtiradi. Birlamchi kallas induksiysini va uning o'sishi faoliyatini tezlashtirish uchun ozuqa muhitiga

o'simlik ekstraktlari yoki sharbatlari qo'shiladi. Kokos suti-kokos yong'og'i suyuq endospermi o'sish tezligini oshirish xususiyatiga ega. Qattiq ozuqa muhitini tayyorlashda dengiz suv o'tlaridan olinadigan polisaharid agar-agardan foydalaniladi. "Vacto agar" va o'zimizda ishlab chiqariladigan bakterial agarda keraksiz qo'shimchalarning miqdori kamroq bo'ladi. Bunday agarlarni qattiq ozuqa muhiti tayyorlashda tozalamasdan ishlatish mumkin. Odatda qattiq ozuqa muhiti tayyorlashda 5-7 % agardan foydalaniladi. Vaqtdan unumli foydalanish uchun makro- va mikro tuzlar hamda vitaminlar eritmaları yuqori miqdordagi boshlang'ich eritmalarini tayyorlab, ularni ko'p marta suyultirib ishlatish mumkin. Konsentrlangan eritmalar muzlatgichda saqlanadi, vitaminli eritmalar minusli haroratda saqlanadi. Makrotuzlar eritmaları 10-20 marta ko'p miqdorda, mikrotuzlar eritmaları 100-1000 marta ko'p miqdorda, vitaminlar eritmaları esa 1000 marta ko'p darajali miqdorda tayyorlanadi. Har-xil turlarga mansub o'simliklar hujayralari, to'qimalari va organlarini o'stirishda turli tarkibdagi ozuqa muhitlaridan foydalaniladi. Ko'pincha Murasiga-Skuga, Uayt; Gamborga (V-5) ozuqa muhitlari ishlatiladi. Murasiga-Skuga ozuqa muhitlaridan turlicha modifikatsiyalar bilan apikal meristemalar o'stirishda va o'simlikni mikroko'paytirishda foydalaniladi.

3. Ajratilgan tuqimalar kulturasi deganda odatda kallus to'qimasi yoki shish to'qimasi tasavvur etiladi. (Laptev Yu.G, Mishustin Ye.)

Jukovskiy P.M, Ostonaqulov T.E ma'lumotlari buyicha, kallus bu dedifferensiyalangan hujayralardan iborat tashkillanmagai massa. Kallusning hosil bo'lishi va o'sishi *auksin* hamda *sitokinin* guruhlariga mansub bo'lgan fitogarmonlar tomonidan pazorat qilinadi. Ixtisoslashgan to'qimaning differensiyalangan hujayralari auksin ta'sirida dedifferensirovkani yengadi, sitokinenlar ta'sirida esa aktiv bo'linishga o'tib, kallusli to'qima hosil qiladi. Ikki pallali o'simliklar kalluslari, fitogarmon tutuvchi turli sun'iy ozuqa muhitlarida turli organlar eksplantlarida: aseptik o'suvchi urug'larda, poya va ildiz bo'laklarida, izolyasiyalangan parenxima bo'laklarida, tuganak to'qimalarda, izolyasiyalangan poya murtagida, bargda oson hosil bo'ladi.

In vitro kallus to'qimasi asosan oq yoki sarg'ish rangda bo'ladi. Kallus qariy boshlaganda fenol birikmalari to'planishi natijasida qo'ng'ir rangga kira boshlaydi. (Xo'jamshukurov N.A., Reteyum A. Yu)

Kallus to'qimasi amorf bo'lib, aniq anatomik tuzilishga ega emas. Lekin kelib chiqishiga, o'sish sharoitiga bog'liq holda u:

1. Po'k alohida mayda agregatlarga tez parchalanuvchi.
2. O'rta zichlikdagi, meristematik markazni yaxshi ko'rinadigan.
3. Zich, kambiy, elementlari differensiyalanayotgan va sistemaga tushayotgan holatda bo'ladi. (Klausner A, Umarov M. M)

Pexov A.P, Beker M.Ye., ularning ishlari usimlik hujayrasining differensirovkasi va kallusga aylanish uchun ozuqa muhit tarkibida fitogormonlar: auksin va sitokinenlar ishtirok etishi lozim. Auksin hujayra differensirovkasi jarayonini yuzaga keltirib, bo'linishga tayyorlaydi, sitokinin esa differensiyalangan hujayralarni bo'linishga olib keladi. Agar gormonsiz ozuqa muhitlariga differensiyalangan o'simlik eksplanti joylashtirilsa (poya, barg, ildiz bo'lagi) hujayra bo'linishi ketmaydi va kallus hosil bo'lmaydi. Bu differensiyalangan hujayralarning bo'linish xususiyatiga ega emasligini ko'rsatadi. Har bir hujayra o'sishning bo'linish, cho'zilish, differensirovka fazalarini o'tashi kerak. Dedifferensiyalangan hujayralarning bo'linishi natijada kallus hosil bo'ladi. (Ayala F, Udalova E. V.,)

Hujayralarning in vitro differensiyalangan holatdan dedifferensiyalangan holatga o'tishi va hujayralarning aktiv bo'linishi genlarning aktivligining o'zgarishi bilan bog'liq. Ba'zi genlarning faollashuvi ba'zilarining passivlashuvi hujayraning oqsil tarkibining o'zgarishiga olib keladi. Kallus hujayralarida spetsifik oqsillar paydo bo'ladi va bir vaqtning o'zida bargning fotosinteziga taaluqli oqsillar kamayadi yoki umuman yo'qolib ketadi. Hujayralar dedifferensiyalanib kallus hosil qilish jarayonida hujayrada biokimyaviy va sitologik o'zgarishlar ro'y beradi. Dedifferensirovka zaxira moddalar sarflanib hujayra organellalarining parchalanishidan boshlanadi. Dedifferensirovka induksiyasidan 6-12 soat o'tganidan so'ng hujayra qobig'i po'kaklashadi va shishadi, erkin ribosomalar soni ortadi, golgi apparati elementlarining soni ko'payadi, yadrochalarning o'lchami kattalashadi va soni oshadi. (Xojamshukurov N.A., Laptev Yu.G., Chikanova V. M)

Kallus hujayrasining rivojlanish sikli. Kallus hujayralari qariyb, bo'linish xususiyatlarini yo'qotmasliklari uchun eksplantida paydo bo'lgan birlamchi kallus 4-6

xaftadan so'ng yangi ozuqa muhitiga o'tkaziladi. Bu muolajani passirlash deyiladi.

Doimiy passirlash yo'li bilan hujayralarni bo'linish qobiliyatini o'n yillab saqlab turish mumkin.(Egamberdiyev A.E., Gorlitz H., Sever D. J.)

Ma'lumotlarida kallus hujayralarining o'sish egri chizig'i S-simon shaklga ega.

Bunday o'sishni kallus hujayralarining suspenziya kulturalarida oson ko'rish mumkin.

O'sish egri chizig'i 5 ta fazani o'z ichiga oladi.

1.Latent yoki lag-faza davri bo'lib bunda hujayralarning massasi va son ko'paymaydi lekin hujayralar bo'linishga tayyorlanadi.

2.Logorifmik yoki eksponensial o'sishi fazasi bo'lib, hujayralarning mitotik faolligi ortadi, kallus kulturasining vazni kattalashadi va hujayraning o'sish tezligi oshadi.

3.Liniyal faza bo'lib bunda o'sish tezligi doimiy yoki bir xil bo'ladi.

4.O'sishning sekinlashish fazasi bo'lib bunda, hujayraniig mitotik aktivligi birdaniga pasayadi.

5. O'sish egri chizig'i—yuqori nuqtaga chiqadi. Shu davrdan boshlab hujayralarning parchalanishi boshlanadi, lekin hujayralar bo'linishi xisobiga ularning soni o'sishi bilan xali tenglashayotgan bo'ladi, umuman olganda hujayra massasining o'sish tezligi nolga teng. Stasionar fazadan so'ng hujayraning o'lish davri boshlanadi, bunda tirik hujayralar soni kamayadi.

Kallus xujayralarining o'ziga xosligi. Kallus hujayralari in vitro o'simlik organizmi normal ota—ona hujayralarga xos bo'lgan fiziologik, bioximiyaviy xususiyatlarga ega bo'ladi.

Ular ikkilamchi metabolitik sintez qilish qobiliyatini saqlab qoladi. Kallus to'qimalari ning yuqori haroratga, osmotik aktiv moddalarga chidamliligi xususiyatlari bilan normal o'simliklarga o'xshashdir. Ularniig normal o'simliklardan farq qiladigan tomoni, ularda spesifk oqsillarning paydo bo'lishi va bargning fotosintez qiluvchi hujayralariga xos bo'lgan oqsillar miqdorining kamayishiga yoki yo'qolib ketishidir.(Jukes T. N., Muromsev G. S)

Kallus xujayrasining genetikasi. Uzoq vaqtgacha kallus hujayralari genetik bir xil deb hisoblanardi. Lekin 60-yillarda kallus hujayralarining genetik geterogenligi ma'lum bo'ldi. Kallus hujayralari xromosomalar soni bilan farq qiladi. Meristematik to'qimalar in vitro genetik turg'un bo'ladi. Kallus va suspenziya kulturalarida boshlang'ich

o'simlikga xos diploid hujayralar to'plamini 3; 4; 5; va undan ko'proq xromosomalar to'plamini poli-ploid hujayralarni uchratish mumkin. Undan tashqari kallus to'qimalari kulchurasida aneuploidni xam kuzatish mumkin. Kallus hujayralari qancha uzoq vaqt o'stirilsa ular ploidliligi bilan shunchalik ko'p farq qiladi. Tamaki kallus to'qimasini 4 yil o'stiril gandan so'ng diploid hujayrar umuman qolmaydi, hamma hujayralar poleploid yoki aneuploid bo'ladi.(To'raqulov Ye.X, Sultonov YuS)

Protoplast olish. 1892 yili Dj Klerk tomonidan birinchi marga plazmolizni (sitoplazmani hujayra devoriga yaqin :qavatini hujayraning qattiq qobig'idan ajratilgani) o'rganish maqsadida protoplast ajratib olgan. U suv o'simligi telofereznish barg tuqimalarini plazmolizlagan. Bunda protoplast hosil bo'lgan. Progoplagt olishning bir necha usullari mavjud:

Protoplastlarni mexanik tarzda ajratish; Masalan: piyoz eiidermmsiii yupqa qatlamini 0,1 m saxarozaga solib qo'yiladi, so'ngra ustara yordamida kesiladi.O'simlik protoplastlarini ajratish sohasida olib borilgan izlanishlar natijaslda mexanik usulni takomillashtirib yangi uslublarning yulaga kelishiga sabab bo'ldi. Bunga fermentlar yordamida hujayra devorini parchalashni misol qilib keltirish mumkin. Bakteriyalar hujayra devorini lizosim fermenti yordamida parchalash mumkin. Ye. .Kokin yuqori o'simliklardan fermentlar ishtirokida irotopmlast olishni yo'lga qo'ydi. (Klausner, Bruinsma J.,Sultonov YuS)

Fermentlar yordamada protoplast oliishing mexanik tarzda protoplast olishdan ustunlik tomoni shundaki:

- 1) Bir vaqtshshg o'zida ko'p miqdorda protoplast ajratish mumkin
- 2) Protoplastlarni kuchli osmotik siqishning hojati yo'q
- 3).Hujayra toza va zararlanmagan bo'ladi
- 4) Uslub nisbagan tezroq bajariladi

Hujayra devorini parchalash uchun uch xil sellyuloza, gemisellyuloza va pektinaza fermentlaridan foydalaniladi. Bu fermentlarning ta'siri hujayra devori komponent-larii parchalashga yo'naltirilgan bo'ladi. Bu komponentlarga seluloza, gemisellyuloza va pektin moddalari kiradi.(Artikova R, Nikell L.)

Protoplastlarni ajratishda hujayralarning tuzilish xususiyatlariga qarab ferment preparatlari tanlanadi. Masalan, mevalardan protoplast olish uchun hujayradagi pektin ning miqdori yuqori bo'lganligi sababi pektinaza fermentidan foydalaniladi.

Mevalardan protoplast olish uchta jarayonni o'z ichiga oladi:

- 1) fermentlar bilan ishlov berish
- 2) protoplastlarni olish
- 3) hujayra qobiqlaridan intakt protoplastlarni ajratish.

Bargdan protoplast olishda barg to'qimalari epidermisdan xali etiladi, nektinaza ferment bilan birgalikda selluloza fermenti (hujayra devorining sellulozalik komponentlarini parchalaydi) bilan ishlov beriladi.

I. Takebe asosan tamaki bargi uchun protoplastlarni ajratish uslubini ishlab chiqdi. 50-70 kunlik sog'lom o'simlikdan to'la shakllangan barg olinib, 70% li etanolga solinib, so'ng 15-20 daqiqaga 10% li kalsiy ginoxlorid eritmasiga solinadi va distillangan suv bilan bir necha marta yuviladi. Pinset yordamida bargdan epidermis olinib, skalpel bilan 4 sm² kattalikdagi bo'laklarga bo'linadi. (Ostonaqulov T.E., Azizxodjayev A.)

Adabiyotlarda Jukovski epidermisdan tozalangan barg to'qimalariga birinchi bosqichda nektinaza fermenti ikkinchi bosqichda selluloza fermenti bilan ishlov beriladi.

Optimal sharoitlar protoplastlarni olishda turli to'qimalar individual tanlanadi. Yashashga moslashgan, nativ protoplastlar olishda osmotik stabilizatorlarni tanlash muhim omillardan hisoblanadi, bu o'simliklarning fiziologik holatiga qarab tanlanadi.

Protoplastlar qorong'u yoki yarim qorong'u joylarda ajratiladi, bunda rN 5,4-6,2 bo'lishi kerak. Protoplastlarning turg'unligi CaS₁₂ va Mg S₁₂ ning yuqori miqdori ushlab turadi.-(Beker M.Ye)

Protoplastlarni olishda, shuningdek hujayra suspenziyasi va kallus kulturalaridan ham foydalanish mumkin.

4. Kallusni suyuq ozuqa muhitiga solib, doimiy chayqatib aralashtirish yo'li hujayralar suspenziyasi bilan olinadi. Pektinaza fermentidan foydalanib eksplantidan suspenzion kul'tura olish mumkin. Oldin eksplant yuzasida kallus cho'qimasi hosil qilinadi, so'ng undan alohida hujayralar va hujayra agregatlari olinadi natijada hujayra suspenziyasida

hosil bo'ladi. 100 ml suspenziya olish uchun 2-3 g yangi kallus tuqimasi kerak bo'ladi. (Gulyayev G.V.)

Suspenziya hujayralarning bo'linishi kallus hujayralari induksiyasi va o'sishi uchun zarur bo'lgan garmonlar auksin, sitokininlar ishtirokida boradi. Suspenziya 2,4D li ozuqa muhitida o'stirilgan po'k kallusdan yaxshiroq hosil bo'ladi.

Hujayra suspenziyasidan biotexnologiyada ikkilamchi bo'lgan metabolitlar yani dorivor moddalar olishda, hujayra biomassasini o'stirishda va hujayra seleksiyasida foydalaniladi.

Hujayra suspenziyasi bilan ishlashda ularning harakteristikasini, yashash qobiliyatini, suspenzion kulturadagi zichligini agregirlanish darajasini, o'sish tezligini bilish zarur. Ularning yashash qobiliyatini bo'yab aniqlanadi. Bunda metil ko'k yoki Evaks ko'k bo'yog'idan foydalaniladi. Bunda tirik hujayralar bo'yalmaydi, nobud bo'lgan hujayralar ko'k rangga bo'yaladi. Genetik va fiziologik izlaliqlar uchun, shuningdek hujayra seleksiyasida foydalanish uchun alohida hujayralarni o'stirish katta ahamiyatga ega. (Grin N, Long R.)

Alohida hujayralardan olingan klon-avlodlar genetik bir xil emaslikning sabablarini bilishda yordam berdi. Ajratilgan protoplastdan olingan yakka gibrid hujayra keyingi bo'linishida gibrid hujayralardan iborat klon olish imkoniyatini beradi. Alohida hujayralar o'simlik to'qimasi hujayra suspenziyasidan fermentlar bilan maserasiyalanganidan so'ng, ajratilgan protoplastlardan hujayra devori tiklanganidan so'ng ajratib olinadi. Bir hujayrali fraksiyalar olish uchun, kolbadagi suspenziyani tindirib qo'yib, ustki suyuq qismidan olsa bo'ladi. Bunda yirik agregatlar kolba tagiga cho'kadi. Bundan tashqari alohida hujayralarni maserasiyalovchi fermentlardan foydalanib, saharoza gradiyentida sentrifugalab, yoki metall elakdan filtrlab olish mumkin.

Alohida hujayralarning bo'linib ko'payishi uchun maxsus uslublar ishlab chiqidgan, 1950 yil Djonson «enaga» uslubini taklif etdi, bunda «enaga» vazifasini filtr qog'oz bilan, undan ajratilgan kallus to'qimasi bo'lagi bajaradi. «Enaga» ishtirokida alohida hujayra bo'linib, hujayra-klon induvidial koloniya beradi. Hujayra bo'linishining induksiyasi uchun «ozukalantiruvchi qatlam» dan foydalanish mumkin. Hujayra bo'linishini stimullash va muhitni kondisionirlash uchun intensiv bo'linayotgan hujayra kulturasi o'sayotgan ozuqa muhitdan qo'shiladi. (Jukovskiy P.M, Popov A. S.)

5 Xulosa qilib aytganda biotexnologiyaning yangi bosqichi hujayra muxandisligidan foydalanib organ, to'qima va hujayralarni sun'iy ozuqa muhitlarida o'stirib, ulardan medisina va xalq xo'jaligining boshqa tarmoqlari uchun ikkilamchi sintez moddalar, viruslardan holi ekish materiallari olish, tashqi noqulay sharoitga chidamlr tez rivojlanadigan o'simliklar olishda foydalaniladi. Kallus to'qimalaridan transgen formalar olish hozirgi kunda xalq xo'jaligida keng ishlchatilmoqda. Kallus to'qimalaridan hujayralar suspenziyasi olinib, dorivor moddalarga bo'lgan ikkilamchi metabolitlar olishda, hujayralar biomassasini o'stirishda, hujayra ssksiyasida keng qo'llanilmoqda

1.3.4. O'simliklar seleksiyasida In vitro usulini qo'llash

1. Hujayra texnologiyasining yana bir yo'nalishi bu hujayra texnologiyasidan seleksiyadan foydalanishdir. Bu usuldan foydalanib, seleksiya jarayonlarini tezlashtirish va osonlashtarish, o'simliklarning yangi shakllarini va navlarini yaratish mumkin.(Egamberdiyev A.E)

Ajratilgan hujayra va to'qimalarni In vitro o'starishni ikkita guruxga bo'lish mumkin.(Artikova R)

1-gurux. Bu yordamchi texnologiya bo'lib, seleksiyaning o'rnini bosa olmaydi, lekin unga xizmat qiladi.

Bunga In vitro urug'lantirish, urug'murtakni va yetilmagan gibrid murtaklarni o'stirish, changdon va mikrosporalarni o'stirib gaploid olish, ajratilgan hujayralarni kriosaqdash, alohida gibridlarni klonal mikroko'paytirishni kiritish mumkin.

2-gurux seleksiyaning ananaviy uslublaridan farq qiluvchi uslublar bilan o'simliklarning yangi shakl va navlarni olish: kallus to'qmasidan foydalanib hujayra seleksiyasi, somatik gibridizasiya, gen muxandisligi uslublarini qo'llash.

In vitro urug'lantirish. Tanlangan juftlarni tabiiy sharoitda urug'lantirish mumkin bo'lmagan hollarda bu usuldan foydalaniladi.

In vitro urug'lantirishni ikki xil yo'l bilan amalga oshirish mumkin.

- a) Tuguncha sirtiga chang qo'yilgan holda suniiy agarli muhitlarda o'stiriladi.
- b) Tunchani yorib ozuqa muhitga urug' murtakli plasenta bo'lagi joylashtiriladi unga yaqinroq joyda yoki plasenta to'qimasida tayyor chang o'stiriladi. Urug'lanish ketgan-ketmaganligini urug' murtaklar o'lchamining tezlikda o'sishidan aniqlash mumkin. Shakillangan murtak tinch holatga o'tmasdan, tezlikda o'sib gibril avlodning o'sishi boshlanadi.

Postgam chatishmaslikni yengish. Postgam chatishmaslik changlangandan go'pg kelib chiqadi. Bunda rivojlanmagan, puch, unmaydigan urug'lar hosil bo'ladi. Bunga sabab murtak bilan endospermaning rivojlanish vaqtining to'g'ri kelmasligi bo'lishi mumkin. Endosperma yomon rivojlanganida murtak normal o'smaydi. Bunday hollarda yetilgan puch urug'lardan murtak ajratib olinadi va ozuqa muhitda o'stiriladi.

Murtaklarni suniiy ozuqa muhitlarda o'stirish embriokultura deb ataladi. Yetilgan murtaklarni mineral tuzlar va saharoza tutuvchi fiziologik aktiv moddalar solinmagan oddiy ozuqa muhitlarida o'sgirish mumkin. Hozirgi kunda embriokultura larni seleksiyada qo'llash, qishloq xo'jalik o'simliklarini uzoq formalarini chatishtirib yangi duragaylar olishda katta ahamiyat kasb etmoqda. (Laptev Yu.G., Ernst L. K.)

Ajratilgan murtaklar kulturasida yordamida nafaqat uzoq duragaylashda yoki postgam chatishmaslikni yengishda balki qimmatli duragaylarni mikroko'paytirishda ham foydalaniladi. Mikroko'paytirish kallus to'qimalaridan kallusogenez, morfogenezning induksiyasi va regenerant - o'simlik olish yo'lini beradi (Slyusaryov A.A)

In vitro gaploidlar olish, ularni selektsiyada qullash. Gaploid o'xshashliklardan foydalanib kerakli kombinatsiyalarni tezroq topish va qisqa vaqt ichida nav yaratish mumkin. Gaploidlar stabil gomozigot tizimlar olishda ishlatiladi. Gaploid asoslar steril, lekin ularning xromosomalar to'plamini kolxisin yordamida ikki marta ko'paytirish mumkin va diploid gomozigot o'simliklar olish mumkin.

Ajratilgan to'qimalar kulturasidan foydalanib gaploid olishning uchta usuli bor:

Androgensz - Ajratilgan changdoi va mikrosporalarni sun'iy ozuqa muhitlarida o'stirib gaploid o'simliklar olish.

Gipogeyez - Ajratilgan urug' murtaklardan suniiy ozuqa muhitida o'stirib gaploid o'simliklar olish.

Partenogenez - Duragay murtakdan gaploid olish.

Kallus to'qimasidal regenerant-o'simlik olish texnologiyasi ishlab chiqilgandan so'ng boshlang'ich o'simlikdan fenotipik va genotipik xususiyatlari bilan farq qiluvchi o'simliklarning yangi shakllarini yaratish imkoniyati paydo bo'ldi. Bu «somaklon» deb atala boshlandi. Somaklon o'zgaruvchanlikning genetik tabiati va samaklonal o'zgaruvchanlikning mexanizmi kam o'rganilgan. (Jukes T. N.)

Differensiyalangan hujayralar, normal o'simliklarda turli darajadagi ploidlikka ega lekin ayrim turlargina diploid hujayralarga xosdir. Ontogenez jarayonida turli ploidli hujayralar kelib chiqishi mumkin. Somaklonal variantlardan qishloq xujaligi amaliyotida qo'llaniladi. Bularga, otalik va onalik o'simligidan bioximiyaviy, sitogenetik xususiyatlari bilan farq qiluvchi shakllarning paydo bo'lishi kiradi. (Slyusaryov A.A.)

2. Somaklonlarni olishni hujayra seleksiyasi bilan birga olib borilsa yaxshi natijalarga erishish mumkin. Hujayra seleksiyasini quyidagi uslublar bilan amalga oshirish mumkin.

- to'g'ri seleksiya (pozitiv), bunda hujayraning ma'lum mutantlari yashashi kerak.

- noto'g'ri seleksiya (negativ), bunda bo'linayotgan yovvoyi tip hujayralarni tanlab yo'qotishga metabolitga faol bulmagan hujayralarning yashab ketishiga, lekin ular da mutatsiya o'zgarishlarning qo'shimcha identifikatsiyasiga asoslangan.

- umumiy seleksiya, bunda hamma hujayra klonlari alohida o'rganiladi.

- yuziki seleksiya yoki noselektiv tanlash, bunda tizim variantlari xamma populyatsiya ichidan ko'rinishiga qarab yoki biokimyaviy usullar orqali aniqlanadi.

To'g'ri seleksiya ko'proq tarqalgan usullardan bo'lib, gerbisidlarga, antibiotiklarga, toksinlarga, og'ir metallarga, tuzlarga va boshqa antimetabolitlarga chidamli regenerant (yangi) o'simliklar olishda foydalaniladi. (Pexov A.P)

3. Hujayra seleksiyasi ishlarini amalga oshirish uchun kallus, suspensyon kulgura yoki ajratilgan protoplastlardan foydalanish mumkin. Hujayra seleksiyasining keyingi uslublaridan biri bu somatik hujayralardan olingan protoplastlarni bir biriga qo'shishdir. Bu uslub, oddiy jinsiy yo'l bilan chatishtirish imkoni bo'lmagan o'simliklarning filogenetik uzoq turlarini chatishtirish imkoniyatini beradi.

Protoplast - bu pektin-sellyulozali qobiqdan maxrum etilgan tirik hujayradir. Hozirgi vaqtda protoplastlarni o'simliklarning ildiz, barg, gul, mevalaridan, kartoshka tuganagidan, turli shishlardan, mikrosporalardan va turli organlar to'qimalaridan ajratib olish mumkin. Pektoligik, sellyulotik fermentlar va osmotik aktiv moddalar eritmalari bilan protoplastlarni zararlamasdan hujayra devorini parchalashga erishish mumkin.

Agar ajratilgan protoplastlar ozuqa muhitlariga ekilsa 3-4 kundan so'ng yana ularning hujayra devori tiklanib, hujayralar bo'linishga o'tadi. 12-14 inchi kuni hamma hujayralar mikrokoloniyalarga aylanadi. Shundans so'ng hosil bo'lan 20-40 ta hujayralardan iborat mikrokoloniyalar yangi ozuqa muhitiga o'tkaziladi, bu yerda ular kallus hosil qiladi, Shu kalluslardan regenerant-o'simlik olish mumkin.

Ajratilgan protoplastlar qo'shilish xususiyatiga ega. Bir xil o'simliklar protoplasti, har-xil turga mansub o'simliklar protoplasti va turli oilaga mansub o'simliklar protoplastlarini qo'shish mumkin. Protoplastlarning qo'shilishidan gibridlar yoki sibiridlar hosil bo'ladi. Sibirid hujayra ikkala partnerning bittasining sitoplazmasiga, ikkinchisining yadrosiga ega bo'ladi. Sibiridizasiya sitoplazma (SMS) xosgalariga ega bo'lgan genlarni, ba'zi gerbisid va patogenlarga chidamlilik gellarini o'tkazish imkonini beradi. (Artikova R)

Xulosa qilib aytganda, hujayra texnologiyasidan foydalanib, seleksiya jarayonlarini tezlashtirish va osonlashtirish, o'simliklarning yalgi shakllarini va navlarini yaratish mumkin. Ajratilgan hujayra va to'qimalarni In vitro o'stish, postgam chatishmaslikni yengish, embriokulturalar olish, qimmatli duragaylarni mikroko'paytirish, In vitro gaploidlar, somoklonlar olish imkoniyatini beradi.

1.3.5. Rekombinant DNK olish, genlar bibliotekasini yaratish va individual genlarni ajratish

Gen muxandisligining poydevori-rekombinant DNKlar texnologiyasi genetik strukturalarini birga qo'shish texnikasi molekulyar biologiyani eng muhim yutuqlari dandir. Bu texnologiyadan foydalanib zarur mahsulotni (oqsilni) kodiraydigan DNK molekulasi kichik bir qismi genni kesib olish, uning yot gen bilan kombinatsiyasini yaratish, shuning uchun bu yangi genomni munosib hujayralarga kiritib o'z joyiga hujayra DNKsining sintez mexanizmi yordamida ko'p marta ko'paytirish mumkin. (Gulyayev G.V)

Sun'iy sharoitda rekombinant DNK olish va genlarni klonlash ilk bor 1972 yilda AQSh olimlari Boyer va Koen tomonidan amalga oshirildi. Bu olimlar *Escherichia coli* bakteriyasining xromosoma DNKsiga va shu bakteriya plazmidasiga alohida idishlarda *EcoRI* restriktaza fermenti bilan ishlav berganlar. Plazmidada tarkibida faqat 1 dona *EcoRI* restriktaza fermenti tanib kesadigan maxsus nukleotidlar izchilligi bo'lganligi sababli ferment plazmidaning halqasimon DNK ko'sh zanjirini faqat bir joyidan kesib, plazmidani "yopishqoq" uchli ochiq holatga o'tkazadi. Xromosoma DNK molekulasida *EcoRI* restriktaza fermenti taniy oladigan maxsus nukleotidlar izchilligi qanday bo'lsa, bu molekula shuncha bo'lakka bo'linadi. (Jukovskiy P.M)

Turli xil o'lchamga ega bo'lgan DNK molekulasi elektroforez uslubi yordamida ajratib olinadi. Ajratib olingan "yopishqoq" uchli xromosoma DNKsi bo'lagi ochiq holatdagi "yopishqoq" uchli ilazmida DNKgi bilan aralashtirilib ligaza fermenti yordamida tiklanadi. Natijada plazmidada tarkibiga xromosoma DNK bo'lagi kiritiladi. Shu boisdan rekombinant DNK ga quyidagicha tarif bershi mumkin: har qanday tirik organizm irsiy molekulasi istalgan bo'lagini vektor molekulalariga birikishidan hosil bo'lgan sun'iy DNK rekombinant DNK deyiladi. (Pexov A.P)

Rekombinant DNK olishda uchta- konnektor, restriktaza ligaza va linker molekulari usullaridan foydalaniladi. Konnektor usulida rekombinatsiyada ishtirok etuvchi DNK

bo'dagining 3' uchiga dezoksinukleotidiltransferaza fermenti yordamida ma'lum uzunlikdagi oligo (dA) - segmenti ulanadi. Ikkinchi uchiga esa oligo ((dT) - segmenti ulanadi. Bu DNK bo'laklari aralashtirilganda dA va dT setmentlarning vodorod bog'lari asosida komplementar birikishi tufayli xalqasimon DNK strukturasi hosil bo'ladi. Hosil bo'lgan DNK dagi bir zanjirli bo'sh joylar DNK-polimeraza1 fermenti yordamida, to'ldiriladi.

Restriktaza-ligaza usuli eng sodda va oson rekombinant DNK olish usuli hisoblanadi. Bu usulda DNK molekulasi va vektor plazmida "yopishqoq" uchlar hosil kiluvchi restriktaza bilan qirqiladi va aralashtirilgan holda ma'lum sharoitda reassosiasiya qilinadi. Komplementarlik xususiyatiga ko'ra DNK molekulalari o'zaro vodorod bog'lari yordamida birikib xalqasimon struktura hosil qiladi va DNK zanjirining birikmagan joylari DNK-ligaza fermenti yordamida ulanadi. (To'raqulov Ye.X.)

Linker molekulalaridan foydalanish usulida DNK molekulasi va vektor plazmidaga T4 fag DNK-ligaza fermenti yordamida maxsus nukleotid ketma-ketligiga ega bo'lgan linker molekula ulanadi. Olingan ikki turdagi DNK molekulasi restriktaza fermenti yordamida qirqilib aralashtirilgan holda reassosiasiya qilinadi. DNK va vektor plazmida molekulalarining birikmagan joylari DNK-ligaza fermenti yordamida ulanadi. Shu yo'sinda rekombinant DNK molekulasi hosil bo'ladi. (Ostonaqulov T.E.)

2. Rekombinant DNK avtonom replikasiya bo'lishi uchun javob beradigan DNK bo'lagi vektor molekulalari deyiladi. Vektor molekulalar o'z vazifasiga ko'ra ikki tipga bo'linadi. Birinchisi avtopom replikasiya bo'luvchi vektorlar. Ikkinchisi xromosomaga integrasiya bo'luvchi vektorlar. Vektor molekulalar gen muxandisligi biotexnologiyasida genlarni klonlashda va transformasiya qilishda asosiy ish quroli bo'lib xizmat qiladi. (Egamberdiyev A.E)

Vektor molekulalari vazifasini fag DNK lari, plazmidalar va o'simliklarni xloroplast xamda mitoxondriya DNK lari o'tashi mumkin. Xo'jalik ahamiyati qimmatli bo'lgan genlarni ajratish uchun gen bibliotekasi tuziladi. Xromosomal DNK asosida gen bibliotekasini tuzish quyidagicha amalga oshiriladi: DNK va vektor molekulalar restriktaza fermenti yordamida qirqiladi va ma'lum sharoitda reassosiasiya qilinadi. Nukleotidlar orasida ulanmay qolgan bo'shliq DNK-ligaza fermenti yordamida o'zaro birlashtiriladi.

Olingan rekombinant DNK bakteriya hujayrasiga transformasiya qilinadi. Xromosomal DNKda mavjud genlarni to'la klonlash uchun DNK o'lchamiga va olingan klonlarni soniga e'tibor berish kerak. Bu ko'rsatkich quyidagi formula yordamida xisoblanadi,

$$1p(1-)$$

$$1p(1-x/u)$$

bunda:

x-klonlanayotgan DNK o'lchami), u-gaploid genomning o'lchami va $r=0,99$ ga teng bolsa 99 ga teng xromosomal DNKning unikal qismi klonlanadi.(Jukes T.N)

Genlarni klonlashda ko'pincha kDNK bibliotekasini tuzish maqsadga muvofiqdir. Bu holda maxsus poli (Y) va oligo (dT) kolonkalari yordamida uchlarida poli (A) nukleotidlar ketma-ketligini saqlovchi iRNK tRNK va rRNK dan ajratib olinadi. Olingan iRNK molekulasida oligo (dT) nukleotidlari bilan aralashtirilib reasosiasiya qilinadi. Bunda iRNK molekulasining poli (A) uchida dA va dT qo'sh zanjirli segment hosil bo'ladi. Ushbu ikki zanjirli segmentning oligo (dT) uchi kDNK sintezini amalga oshiruvchi revertaza fermenti uchun praymer (kDNK sintezining boshlanish nuqtasi) vazifasini o'taydi.

Sintez qilingan kDNK molekulasida qisqa uchli ikki zanjirli struktura bilan tugallanadi. kDNK sintezida matrisa vazifasini o'tagan iRNK molekulasida NaON bilan parchalanadi natijada qisqa ikki zanjirli va to'liq iRNK molekulasiga komplementar bo'lgan bir zanjirli kDNK molekulasida hosil bo'ladi. Hosil bo'lgan qisqa ikki zanjirli struktura kDNK ning ikkinchi zanjirini sintez qilishda praymer vazifasini o'taydi. DNK-polimeraza I fermenti yordamida kDNKning ikkinchi zanjiri sintez qilinadi. Hosil bo'lgan kDNKning bir zanjirli qismi SI-nukleaza fermenti yordamida parchalanadi va ikki zanjirli kDNK molekulasida hosil bo'ladi. Shu yo'sinda hosil bo'lgan kDNK molekulasida vektor molekulasiga ulangan holda klonlanadi.(Slyusaryov A.A)

Har ikki usul bilan yaratilgan genom bibliotekasidan individual genlarni ajratib olish quyidagicha amalga oshiriladi rekombinant plazmida denaturasiya qilinadi (100° S haroratda 5min., 0,2n NaON eritmasida 15 min), bir zanjirli DNK molekulasida stabil qo'zg'almaydigan holatda turishi uchun nitrosellyuloza filtriga biriktiriladi. Olingan filtr [32 R] ATF nukleotidi bilan nishonlangan iRNK molekulasida bilan gibrizatsiya qilinadi.

Molekulyar gibrizasiya jarayonida filtrga birikkan rekombinant DNK molekulasiga komplementarlik qonuniyati asosida nishonlangan iRNK molekulalari birikadi.

Hosil bo'lgan gibrid DNK molekulasi denaturasiya qilinib nishonlangan iRNK molekulasi (elyusiya yordamida) ajratib olinadi. Olingan iRNK molekulasi hujayrasiz oqsil sintez qilish tizimida tekshirib ko'riladi. Hosil bo'lgan oqsil molekulasining identifikasiya qilish yo'li bilan individual genlarni ajratib olishga omalga oshiriladi..(Artikova R)

Xulosalar. Xulosa qilib aytadigan bo'lsak. Gen muxandisligi uslublari bilan aniq reja asosida mikroorganizmlar, o'simliklar, hayvonlarning yangi shakllarini yuzaga keltiruvchi genlarini konstruksiya qilish mumkin ekan. Genlar bibliotekasini yaratish xo'jalik ahamiyatiga ega bo'lgan geilarni ajratish, ulardan individual genlarni olish va vektor molekulyar tarkibiga transformasiya qilishi uchun zarurdir.

1.3.6. O'simliklarni sog'lomlashtirish va klonal mikroko'paytirish

Kartoshka xosildorligini pasaytiruvchi omillarni ikki guruxga bulish mumkin. birinchi uruglik sifatlarini pasayishi va kayta tiklanmasligi, ikkinchisi esa xosildorlikni fakat shu yili pasaytiradi, keyingi yullarda esa kulay agrotexnika kullanilganda bu kobiliyat yana tiklanadi. Birinchi sababni muallif virus kasalliklari bilan, ikkinchisini esa bakterial kasalliklar, xasharotlar keltiradigan zarar bilan boglaydi. (Pexov A.P., Vovkogon V.G.)

Ekinni virus kasalliklari kartoshka ekiladigan xamma joyda mavjud bulib ularni tarkalish darajasi esa tuprok-iklim va boshka omillarga boglik. Urta Osiyo respublikalari, jumladan Uzbekiston kartoshkani virus kasalliklari keng tarkalgan zonaga kiradi. Bu yerda oddiy rangdorlik, burushgan rangdorlik, yul-yul rangdorlik, barg buralish gatika va stalbur keng tarkalgan bulib ular keltiradigan zarar ekin navi, tuprok-iklim sharoiti va agrotexnikaga boglik ravishda xosildorlikni 15-85% gacha pasaytirish mumkin. (D.T.Abdukarimov,1987, N.Balashev, Ye. G.Luchinina 1978, I.Ergashev 2006).

Zararlangan usimliklardagi viruslarni salbiy ta'siri usimliklardagi kuplab fiziologik jarayonlarni buzilishiga, fotosintezni pasayishi, xar xil difarmasiya va nekrozlar, suv balansi, mineral moddalar va assimiyatlarni xarakatida va boshka jarayonlarga ta'sir etishi bilan kuzatiladi.(N.Goroxova,1979, Yu.I.Leontyeva.M.P.Markovskaya,1994).Shuning uchun xam keyingi yillarda dunyoni kupgina davlatlarida kartoshka urugchiligi virussiz asosda yulga kuyilgan. Ya'ni yetishtiriladigan superelita va elita uruglari uchun xizmat kiladigan daslabki material sifatida xar xil usullar bilan viruslardan soglomlashtirilgan dastlabki material xizmat kilishi mumkin. Bunday usullar orasidan eng samaralisi uchki meristema usulida ekanligi aniklandi.

Kartoshka uchki meristemasida termoterapiya va xemoterapiya usullari bilan birgalikda ustirish virus,mikoplazma bakterial va zamburug kasalliklaridan soglom usimliklar olish imkonini beradi. (Artikova R.,R.Metyuz, 1996, G.S.Muromsev,1990).

Usul shuncha asoslanganki, usimtaning eng uchki kismida, meristema tukimalari (0,1-0,3mm) xujayralaridan jadal bulinishi tufayli viruslar juda past konsentrasiyada buladi yoki umuman bulmaydi (X.Ross,1989).

Ba'zi eksperimentlarda, uchki meristema tukimalarini elektron mikroskopda karalganda ularda viruslar borligi aniklangan. Shunga asoslanib olimlar uchki meristema usulida ustirilganda bu tukimalarda mavjud viruslar eliminasiyaga uchraydi deb xulosa kiladilar. (Kaplan 1. V).

Uchki meristema usulida usimliklarni soglomlashtirishdan keng foydalanishga karamasdan xozirgi paytda olimlar orasida meristema tukimalarida virus infeksiyasi reproduksiyasini pastligi tugrisida bir xil fikrga kelinmagan. (Grin N). Shunga karamasdan bu usulni soglom usimliklarni olishdagi va bunday usimliklarni yukori potensial imkoniyatlari isbotlangan.

Uzbekiston sharoitida bunday usulda olingan tuganaklardan olingan elita xosildorligi oddiy usulga nisbatan 25-30% yukori bulishi aniklangan (D.T.Abdukarimov va boshk., 2005).

Kuyida ishlab chikarishda opikal meristemalardan soglom usimliklarni olish tizimi tugrisida tuxtalamiz.Bu tizim kuyidagi tadbirlar yigindisi bilan belgilanadi.

Meristema tukimalarini olish rejalashtirilgan tuganaklarni 35-37 O S xaroratdagi termostabil kameralarda bir ikki oy ustirish va kuzchalar indeksasiyasi yordamida serologik va immunoferment usullarda viruslarni mavjudligidagina analiz qilish;

- mikrobiologik byukslarda masshtab, turli 30-35 marta kattalashtirish bilan binokulyar mikroskop ostida meristema tukimalari ajratib olinadi va probirkalardagi Murasige-Sxuga ozuka muxitiga utkaziladi;
- probirkalarda xavo xarorati 23 O S, namligi 70% bulgan 5-10 ming lk yoruglik va 16 soatlik yoruglik davomiyligida usimliklar yetishtirish;
- uzunligi 3-5 mm bulgan usimtalarning usishi va rivojlanishini tezlashtirish uchun yangi ozuka muxitiga utkazish;
- olingan klonlardan bir usimlikni elektron mikroskopda viruslarni mavjudligiga tekshirish (soglomlari kupaytirish uchun davom ettiriladi).
- liniyalarni 2-3 marta elektron mikroskopda tekshirish;
- usimliklarni probirkalardan issikxona tuproklariga kuchirib utkazish;
- klon pitomniklariga kerakli mikdorda dastlabki material yaratilgunicha xar xil usullar bilan jadal kupaytirish;
- soglomashtirilgan nav namunalarini kolleksiyasini saklash (probirkalarda)

Bunday usulda soglomashtirilgan usimliklarni ustirish uchun yarakli bulgan sun'iy ozuka muxitlari, ularni tarkibi va soglom usimliklarni in vitroda, issikxonalarda va dalada jadal kupaytirish usullari tugrisida tuxtalamiz.

Respublikamiz qishloq xo'jalik ekinlaridan kartoshkani virussiz urug'chiligida olingan sog'lom dastlabki materialdan rasional foydalanish lozim.(Ergashev, 2005, 2006).

Kartoshkani uchki meristema to'qimalaridan o'stirilgan o'simliklarni ko'paytirish bug'in oraliqlaridan kesilgan qalamchalari bilan sun'iy ozuqa muhitida (in vitro) olib boriladi. Bunday ozuqa muhiti tarkibida makro va mikroelementlar, tuzlar, vitaminlar, o'stiruvchi va regulyator moddalar, qand, aminokislotalar va boshqa o'simlikni o'sishi va rivojlanishi uchun kerakli moddalar kiradi.

Kartoshkachilikda hozirgi vaqtda Morel, Uoyt, Murasige-Skuta, Xiller va boshqa muhitlardan foydalaniladi. Kartoshka uchun eng maqbul bo'lgan ozuqa muhiti bu

kartoshkachilik ITI modifikasiyasidagi Murasige-Skuga bo'lib hisoblanadi. Quyida bu muhitning tarkibi keltirilgan.

Kartoshkadan olingan sog'lom o'simliklarni ko'paytirish uchun bir nechta usullardan foydalaniladi. Bu usullar quyidagilar; probirkadagi o'simliklarni bug'inlaridan bo'lib qalamchalarni ozuqa muhitida qaytadan ekish, o'simlik qismlari, o'simtari va tuganaklaridan foydalanib ko'paytirish usullari kiradi. (Alberts B).

Probirkalarda ko'paytirish. Probirkalarda ko'paytirish dastlabki sog'lom o'simliklarni jadal ko'paytirishni samarali usullardan biri bo'lib hisoblanadi. Ya'ni o'simliklar 5-8 ta barg chiqargan vaqtda ular bug'in oralaridan cheklangan sharoitida bo'laklarga bo'lib qaytadan ozuqa muhitiga ekiladi. Bundan so'ng ekilgandan 3-4 kun o'simliklarni qo'ltiq kurtaklaridan yangi o'simliklar rivojlanadi va 12-15 kunlari qaytadan ko'paytirishga tayyor holga keladi.

Yuqoridan o'rganilgan usuldan foydalanish 3-4 oy davomida tuproqqa ekish uchun yaroqli bo'lgan 2-3 mingta o'simliklarni olish imkonini beradi. Agar bu tadbir yana davom ettirilsa 8 oy davomida bitta dastlabki sog'lom o'simliklarning ko'paytirish koeffisienti 1:20000 ga yetish mumkin. Qalamchalardan yetishtirilgan o'simliklarni miqdori kerakli miqdorga erishilgandan so'ng ular torq, chim tuproq va qum aralashmasidan tayyorlangan gruntga ekiladi. (Gulyayev G.V).

O'simliklarni uchki qismi va qo'ltiq navdalardan ko'paytirish.

Kartoshkani bu usulda ko'paytirish yuqori samaradorligiga qaramasdan sog'lom o'simliklarni probirkalarda qalamchalardan ko'paytirish ko'p mehnat va laboratoriya jihozlarini talab etadi. Shuning uchun bunday o'simliklarni ko'paytirish boshqa usullardan foydalanish mumkin.

Masalan, uzunligi 20-25 metr ga yetgan o'simliklarni 3-4 ta barg qismi kesib olinadi va ildiz olishini tezlashtirish uchun 6 soat davomida geteraouksin (50mg/l) eritmasiga botirib qo'yiladi va namlangan tuproqqa 3-4 sm chuqurlikka ekiladi. Bir o'simliklanpoyalar soniga qarab 3-6 ta shunday o'simliklarni olish mumkin. (Beker M.Ye, Gulyayev G.V).

Ekilgandan keyin 7-8 kunlari o'simliklar ildiz olib o'sa boshlaydi. O'simliklarni uchki qismini kesilishi yon poyonlarini rivojlanishiga olib keladi. Ularni ham

ko'paytirish uchun foydalaniladi. Bunday yon poyalari faqat bir marta olinadi. Tajribalarda o'simlik uchki qismi va yon poyalardan foydalanib ko'paytirilganda ko'payish koeffisienti 1:700 ga yetgan. Bu usulda ko'paytirilganda tajribalarda 1 ta o'simlikdan 108 tagacha tuganak olinadi.

Hosildorlikni oshirish maqsadida o'simliklar 3 marta Knonn eritmasi bilan sug'orilishi hosildorlikni oshiradi. (Ostonaqulov T.E, Laptev Yu.G).

O'simtalar bilan ko'paytirish. Bu usulda o'sib boshlagan tuganaklar yashiklarga qo'yilib torf bilan 2-3 sm qalinlikda qo'yilib qo'shib qo'yiladi. Uzunligi 10 smga yetgan o'simtalar tuganaklardan ajratib olinib gruntga ekiladi. Shunday usulda bir tuganakdan 5 marta. Jami 20 tagacha o'simtalar olish mumkin. Tajribalarda o'simtalardan o'rtacha 5 ta jami 600 g hosil olingan. Birinchi ajratib olingan o'simtalar yuqoriroq hosil berganligi aniqlangan. Bu usulda ko'payish koeffisienti navga qarab 1:50 – 1:90 ni tashkil etadi, agar bu usul o'simlik uchun uchki qismlari va yon poyalaridan foydalanib qo'shib olib borilsa 1:2450 ga yetishi aniqlangan. (Egamberdiyev A.E, Laptev Yu.G, Gud ilin I. I.)

O'simta bo'laklari bilan kupaytirish. Bu usul nemis olimi U.Xammon tomonidan ishlab chiqilgan. Kuzda kovlab olingan tuganaklar uzoq vaqt (160-180 kun) o'stirishga qo'yiladi. Shoxsimon o'simtalar paydo bo'lganidan keyin ularni uzunligi 1-1,5sm bo'lgan kurtakli qismi namlangan filtr qog'ozlariga qo'yiladi. Bu bo'laklarda ildiz boshlang'ichlari paydo bo'lganidan so'ng (3-5 kundan keyin) ular yashiklarda har 3-4 sm masofada qo'yilib ustidan 0,5-1 sm qalinlikda ho'llangan torf bilan qo'shiladi. Bunday o'simtalardan 12-15 kundan so'ng uzunligi 5-10 sm bo'lgan o'simliklar olinadi. Bu usulda bitta tuganakdan 130-200 ta o'simta olinib, ko'payish koeffisienti 1:770 va 1:1130 ga yetish mumkin. (To'raqulov Ye.X, Ergashev I.T)

Bir yilda ikki marta hosil olish. Respublikamiz sharoitida kartoshka tezpishar navlaridan bir yilda ikki marta hosil olish mumkin. Bunday imkoniyatdan sog'lom o'simliklarni jadal ko'paytirishda foydalanish mumkin va bu usuldan foydalanishda 1 ta sog'lom tuganakni ko'paytirish koeffisienti naviga qarab 1:42 va 1: 73 ta bo'lishi mumkin. Oddiy usulda bu ko'rsatkich 1:45, 1:9 tani tashkil etadi. Buning uchun bahorda ekilgan kartoshka hosili yozda yig'ishtirib olinadi va o'stiruvchi stimulyatorlar

eritmasida ishlanib qayta ekiladi. Bu eritma bilan ishlashdan maqsad tabiiy holda tuganaklarda ekining naviga qarab 1,5-4,0 oy davom etgan biologik tinim davrining buzishga qaratilgan. Bir yilda ikki hosil olish faqat sog'lom o'simliklarni ko'payish koeffisientini oshirishdan tashqari kartoshka seleksiyasi va urug'chilik jarayonining ikki baravar tezlashtirish imkonini beradi. (Pexov A.P, Grin N).

Umuman, uchki meristema usulida o'simliklarni sog'lomlashtirish-bu dastlabki material yaratishni bir usuli bo'lib ularni jadal ko'paytirish usullarini qo'llanilishi sog'lom o'simliklarni potensial imkoniyatlaridan to'la foydalanish imkonini beradi.

Kupaytirish. Sog'lomlashtirilgan tuganaklarni kaytadan kasallanishining oldini olish uchun ular tabiiy uralgan (urmon, tog, suv ombori, daryolar bilan) joylarda soglom uruglik maydonlarining urtasida, begona utlar kam, yaxshi shamol tegadigan yoki doka izolyatorlar tagida kupaytirib olingani maksadga muvofik. Daladagi doka izolyatorlari xar kanday konstruksiyasidan kat'iy nazar, xar bir tonna yetishtiriladigan elita uchun kamida 1,5 – 2 m² izolyasiya uychalari kerak buladi. Soglom tuganaklardan elita yetishtirishgacha bulgan davr kancha kiska bulsa, soglom usimliklarning potensil imkoniyatlaridan foydalanish darajasi shuncha yukori buldi. Shuning uchun kartoshkaning virussiz urugchiligidagi soglom tuganaklarni jadal kupaytirishning turli usullari kullaniladi. Tuganaklarni ekish oldi kesish, usimtalar bilan ekish, poya uchki kismalaridan, yon poyachalardan, kalamchalardan kupaytirish va xokazo. Tajribalardan ma'lum bulishicha, poya kismalaridan kupaytirish natijasida tuganaklarning kupayish koeffisiyenti naviga karab 1:332 va 1:667 gacha yetkazish mumkin. (Ergashev,2006)

Dala sharoitida uruglik pitomniklaridag tuganaklarning kupayish koeffisiyenti urtacha 9 ga teng. Uzbekiston sharoiti kartoshka tezpishar navlaridan bir yilda ikki marta xosil olish imkonini beradi. Shuning xisobiga bizning tajribalarimizda tezpishar navlarning soglom-lashtirilgan tuganagining kupayish koeffisiyenti 1:76 ga yetkazish mumkinligi isbotlandi. Tuganaklarni ekishdan oldin kesib utkazish natijasida bu kursatkich ancha (1:138) oshdi. Lekin shuni xam ta'kidlash kerakki, tuganaklarni kesishni boshlangich material mutlako soglom bulgandagina utkazish mumkin, aks xolda kesilgan tuganaklarning ikkinchi avlodidan boshlab X, S va M viruslarning tarkalib ketishiga (3% dan 19,5% gacha) va xosildorlikning pasayib ketishiga olib kelishi mumkin. Yirik

tuganaklar albatta kesish talab etilganda pichoklar dezenfeksiya kilib utkazilgani maksadga muvofikdir. (Beker M.Ye).

Soglomlashtirilgan tuganaklardan elita yetishtirish buyicha olib borgan tajribalarimiz uzimiz ishlab chikkan va Respublika Qishloq xujaligi vazirligi tasdiklagan jadallashgan uslubda olib borildi. Tajribalarimiz kursatishicha, virussiz tuganaklardan bu usulda dastlabki soglom 100 klondan 110 tonnagacha elita olish imkonini beradi. (Ergashev, 1998, 2005, 2006).

Shuning uchun bir yilda ikki xosil olish kartoshka urugchilik sxemasini ikki baravar tezlashtiradi.

2.MAMLAKATIMIZNI MODERNIZASIYA QILISH VA KUCHLI FUQAROLIK JAMIYAT BARPO ETISH-USTIVOR MAQSADIMIZDIR

Mamlakatimizda amalga oshirilgan ijtimoiy – iqtisodiy, ijtimoiy siyosiy ishlarni Prezidentimiz Respublika parlamenti qo'shma majlisidagi ma'ruzasida parlament tomonidan amalga oshirilgan erishilgan yutuqlarni qayd etish bilan birga ikki palatali parlament faoliyatidagi ayrim kamchilik va nuqsonlar foydalanilmay qolib ketgan imkoniyatlar haqida ham o'z fikr va mulozalarini bayon qiladi.

Ushbu maruzasida kamchilik va nuqsonlar foydalanilmay qolgan imkoniyatlar, hamda va ustuvor yo'nalishlari qo'yidagilardan iborat qilib ko'rsatilgan.

Birinchidan, qonunchilik palatasi faoliyatidagi eng katta kamchiliklardan biri uning qonun ijodkorligi ishlari bo'yicha chuqur va har tomonlama puxta ishlab chiqarilgan.

Bu ko'pincha qonunlarning aniq bir tizimiga rioya qilmagan holda ularning qonunchilik tashabbusi hududiga ega bo'lgan subyektlar tomonidan kiritilishiga qarab qabul qilishga olib kelayotgan sabablaridan biridir.

Ikkinchidan, deputatlar kurpusining sustkashligi tufayli iqtisodiy siyosiy qonunida, sanalari jadal rivojlanayotgan islohatlarni amalga oshirish uchun hayotiy zarur bo'lgan qonunlar kiritilmagan.

Masalan, Qonunchilik palatasiga taqdim etilgan 297 ta qonun loyihasidan atiga 44 tasi deputatlar tashabbusi bilan kiritilgan xolos. 42 ta qonun loyihasi bevosita O'zbekiston Respublikasi Prezidenti tomonidan taqdim etilgan 160 ziyod qonun loyihasi esa mamlakat hukumati (vazirlar mahkamasi) tomonidan kiritilgan bo'lib ularning aksariyati O'zbekiston Respublikasi Prezidenti tomonidan farmonlar munosabati bilan ijrosini ta'minlash munosabati bilan kiritilgan.

Uchinchidan, qabul qilinayotgan qonunlarning sifatini tubdan yaxshilash talab etiladi, ularning ko'pchiligi amaldagi qonun hujjatlariga o'zgartirish tuzatish va qo'shimchalar kiritilishiga qaratilgan bo'lib kodeksikasiyalash tavsifiga, ya'ni muayyan darajada tizimlashuv majmuiga ega emas, qabul qilinadigan, qonun loyihalarida

amaldagi qonun hujjatlaridan farq qilingan tafovutlarga yo'l qo'yilgan boshqa hujjatlarga havola qilish holatlari ko'p. Asosiy kamchiligi shundaki qabul qilinadigan qonunlarda aksariyat o'rinlarida ana shu hujjatlarning hayotga tadbiq etilishini ta'minlaydigan prosessual mexanizmlarning mavjud emasligida ko'zga tashlanadi. Bu esa o'z-o'zidan ushbu hujjatlarning qo'llanilishini sezilarli darajada qiyinlashtiradi, qonunlarning ijro etilmasligiga hududiy normalarning oshkor qilinishiga hududiy qo'llash ahamiyati samaradorligining pasayishiga olib keladi.

To'rtinchidan, qonunda ko'zda tutilgan deputatlik nazorati va hududni qo'llash amaliyotini takomillashtirishga ta'sir ko'rsatish shakllaridan sust foydalanilmoqda. Qonunchilik palatasi o'tgan davr faoliyatida doim bir nechta xususan innovasion texnologiyalarni ishlab chiqarishga joriy etish kimyo sanoati korxonalari qurilishini jadallashtirish va yangi turdagi mahsulotlarni ishlab chiqarish bilan bog'liq masalalar bo'yicha parlament so'rovi amalga oshirilgan, bu yetarli emas albatta.

Beshinchidan, parlament deputatlarining o'z saylov oldidagi faoliyatini sezilarli darajada yaxshilash talab etiladi.

Oltinchidan, qo'yi va yuqori palatalar amaliy faoliyatining dastlabki davrida har ikki tomonning o'z amlisiyalarining namoyon bo'lishi bilan bog'liq bo'lgan jiddiy muammolar ko'rsatiladi.

3. JAXON MOLIVaVIY VA IQTISODIY INQIROZI

ShAROITIDA MAVZUNING DOLZARBLIGI

O'zbekiston Prezidenti I.A.Karimovning "Jahon moliyaviy-iqtisodiy inqirozi, O'zbekiston sharoitida uni bartaraf yetishning yo'llari va choralari" asari quyidagi ikki qismdan iborat:

birinchisi — jahon moliyaviy inqirozining O'zbekiston iqtisodiyotiga ta'siri hamda uning oqibatlarini oldini olish va yumshatishga asos bo'lgan omillar;

ikkinchisi — bank tizimini qo'llab-quvvatlash, ishlab chiqarishni modernizasiya qilish, texnik yangilash va diversifikasiya qilish, innovasion texnologiyalarni keng joriy yetish — O'zbekiston uchun inqirozni bartaraf yetish va jahon bozorida yangi marralarga chiqishning ishonchli yo'lidir.

Yuzaga kelgan jahon moliyaviy inqirozi, uning ta'siri va salbiy oqibatlari, vaziyatdan chiqish yo'llarini izlash bugungi kunning eng dolzarb muammosidir deb hisoblaydi Prezidentimiz I.A.Karimov.

Respublikamiz o'zining mustaqil taraqqiyoti davrida qisqa muddatli spekulyativ kreditlardan voz kechib, chet yel investisiyalarini uzoq muddatli va imtiyozli foiz stavkalari bo'yicha jalb etish tamoyiliga doimo amal qilmokda.

Bu ham respublikamiz bank tizimi jahon moliyaviy inqirozining salbiy ta'siri va oqibatlaridan ishonchli tarzda himoyalanganini ko'rsatadi. O'zbekiston o'zining ishonchli va to'lov qobiliyatiga ega hamkor ekanini, mamlakatimizda chet yel sarmoyasini jalb yetish bo'yicha har tomonlama qulay shart-sharoitlar yaratilganini amalda isbotlamoqda.

Mamlakat iqtisodiyotiga kiritiladigan xorijiy va ichki investisiyalarni hisobga olganda, kapital qo'yilmalarning umumiy hajmi mamlakatimiz yalpi ichki mahsulotining kamida 25 foizini tashkil yetadi, aholining ish haqi va daromadlarini izchil va oldindan oshirib borish hamda iste'mol bozorida narxlar indeksining asossiz tarzda o'sishining oldini olishga doir chora-tadbirlar ham izchillik bilan amalga oshirilmoqda.

Mamlakatimizda jahon iqtisodiy inqirozining salbiy oqibatlarini bartaraf etish bo'yicha 2009—2012 yillarga mo'ljallab qabul qilingan Inqirozga qarshi choralar dasturi O'zbekistonni ijtimoiy-iqtisodiy rivojlantirishning eng ustuvor yo'nalishi bo'lib qoladi.

Respublikamizda istiqloolning dastlabki yillarida qabul qilgan, mashhur besh tamoyilga asoslangan ijtimoiy yo'naltirilgan erkin bozor iqtisodiyotiga o'tish modeli yildan-yilga ilgarilab borgan sari o'zini amalda oqlab, naqadar to'g'ri va puxta yekanini kursatmoqda.

Iqtisodiy dasturimizning ikkinchi eng muhim ustuvor yo'nalishi — boshlangan tarkibiy o'zgarishlarni va iqtisodiyotni diversifikasiya qilish jarayonlarini davom ettirishdir.

Mamlakatimizda alohida e'tibor qaratish lozim bo'lgan navbatdagi eng muhim ustuvor vazifa — qishloqda turmush darajasini yuksaltirishga, qishloqlarimiz qiyofasini o'zgartirishga qaratilgan uzoq muddatli va bir-biri bilan chambarchas bog'liq keng ko'lamli chora-tadbirlarni amalga oshirish, ijtimoiy soha va ishlab chiqarish infratuzilmasini rivojlantirishni jadallashtirish, mulkdorning, tadbirkorlik va kichik biznesning maqomi, o'rnini va ahamiyatini tubdan qayta ko'rib chiqish, fermer xo'jaliklari rivojini har tomonlama qo'llab-quvvatlashdir.

4. HAYOT FAOLIYAT XAVFSIZLIGI TADBIRLARI

.

Davlatimizda yuritilayotgan siyosatning ustivor yo'nalishlaridan biri bu kishilarning ishlab chiqarish va favqulodda vaziyatlarda vujudga kelishi mumkin bo'lgan xavf – xatardan sog'ligi va xavfsizligini ta'minlashdir.

Ishlab chiqarish yoki faoliyati davomida sodir bo'ladigan barcha ko'ngilsiz hodisalarni nazorat qilish va hisobga olish O'zbekiston Respublikasi Vazirlar Mahkamasining 1997 – yil 6- iyundagi 286 sonli qarori bilan tasdiqlangan Nizomga asosan olib boriladi. Nazorat qilish va ro'yxatga olishga korxonada va uning tashqarisida ish vaqtida yuz bergan quyidagi baxtsiz hodisalar kiradi.

- Jarohatlanish, zaharlanish, kuyish, cho'kish, elektr toki va yashin urushi, o'ta issiq yoki o'ta sovuq harorat ta'siri, portlash, falokat, imoratlar, inshootlar va konstruksiyalarning buzilishi natijasida hamda sudralib yuruvchilar, hayvonlar va hashoratlar tomonidan jarohatlanishlar, tabiiy ofatlar (yer qimirlash, upirilishlar, suv toshqini, tufon va boshqalar) oqibatida sog'liqning boshqa xil zararlanishlari, kasb kasalliklari (sog'liqni saqlash vazirligi o'rnatgan va tasdiqlagan ko'rsatmalar bilan tekshiriladi) agar mehnat qobiliyatini 1 ish kunidan kam bo'lmagan holda yo'qotilsa (*N-1* shakldagi dalolatnoma qayd qilinadi va bu dalolatnoma 4 nusxada to'ldiriladi va 45 yil arxivda saqlanadi), ish bilan ta'minlovchi ko'rsatma bermagan bo'lsa ham lekin korxona manfaatlarini ko'zlab qandaydir ishni amalga oshirayotganda, avtomobil, temir yo'l, havo yo'llari, dengiz va daryo transportida, elektr transportida yo'l harakati hodisasi natijasi, korxona transportida yoki, shartnomaga muvofiq o'zga toshkilot transportida ishga kelayotgan yoki ishdan ketayotganda, ish vaqti davomida, ish beruvchi farmoyishi bor bo'lganda, shaxsiy transportda, uni xizmatga oid safarlarda ishlatish huquqi berilganlik shanbalik (yakshanbalik) o'tkazilayotganda, qayerda bo'lishdan qat'iy nazar korxonalarda otaliq yordami ko'rsatilayotganda, ishlab chiqarishdagi baxtsiz hodisa natijasida xodimning mehnat qobiliyatligi tibbiy xulosaga ko'ra kamida bir kunga yo'qotilsa. Mehnatni muhovaza qilish to'g'risidagi qonunga asosan: Xodimlarni baxtsiz hodisalar va kasb

kasalliklaridan ijtimoiy sug'urtalash. O'zbekiston Respublikasi qonunlarida belgilangan tartibda va shartlar bilan Korxonalarning ishcholari baxtsiz hodisalar va kasb kasalliklaridan majburiy sug'urta qilishlari shart. Ishlab chiqarish mobaynida sodir bo'lgan quyidagi baxtsiz hodisalar hajmdagi idish bo'lishi kerak. Mashina ishlayotgan vaqtida quyidagi ishlarni: zanjir, salnik va qismlarni qotirish, bosim ostida bo'lgan zaxirauarlar va bunkerlarni lyuk va qopqoq, klapanlarini ochish, uchliklar va brandspaytlarni tozalash, manomertlarni burab olish, zaxiralarni ishchi suyuqliklari bilan to'ldirish mumkin emas. Purkagich va changlatgichlarning sozligi Ishdan oldin tekshiriladi, pestisidlar o'rniga harakatsiz kukun va suv qo'llash mumkin emas.

GOST 12.3.04186 va GOST 12.03.03783 talablariga asosan Pestisid va mineral o'g'itlar alohida binolarda saqlanadi. Ular bilan bir joyda yemlarni, kimyoviy aralashmalarni, yem qo'shimchalari, bo'yoqlar, laklar, oziq – ovqat maxsulotlari va boshqalarni saqlash qat'iy taqiqlanadi. Omborxona binolari tabiiy va mexanik vintelatsiya kabi jihozlar bilan ta'minlangan bo'lishi kerak. Omborxonalarda alohida xona va qo'shimcha hojatxona, dushxona shaxsiy himoyalani vositalari, suv, sovun, sochiq, aptechkalar va boshqalarni saqlash uchun xonalar ajratilishi lozim.

Mineral o'g'itlar alohida bo'limlarda saqlanadi. Qoplanmaganlari g'aram qilib balangligi 2 m gacha (qotib qolmagan o'g'itlar 3 m gacha) to'plab qo'yiladi, qoplanganlari esa tagidan namlik o'tmaslik uchun taglik qo'yib, qoplarni bir – birining ustiga g'aram qilib taxlanadi. G'aramlar oralig'i 3 m dan kam bo'lmasligi kerak (mexanizmlarning utishi va ishlashi uchun), g'aramlardan ombor devorigacha bo'lgan oraliq 1 m dan kam bo'lmasligi shart. G'aramning tepasi bilan omborxonaning shipi orasidagi oraliq 0.4 m dan kam bo'lmasligi lozim. Suyuq mineral o'g'itlar maxsus idishlarda saqlanadi. Kislotali va ishqorli shisha idishlarda himoya qoplamlari bo'lishi kerak.

“Mehnatni muhofaza qilish to'g'risida” gi O'zbekiston Respublikasining Qonuniga binoan korxona ma'muriyati ishchi va xizmatchilarni bepul shaxsiy himoya vositalari bilan ta'minlashi, ularni saqlash, yuvish, qurutish,

dexinfeksiyalash va ta'mirlash ishlarini bajarishi kerak. Boshqa tarmoqlar singari qishloq xo'jaligida ham ishchilarni korjoma, poyabzal va himoya vositalari bilan ta'minlash ko'zda tutilgan. Korxonada mehnatning sog'lom va xavfsiz sharoitlarini ta'minlash. Korxonadagi, har bir ish joyidagi mehnat sharoiti mehnatni muhofaza qilish standartlari, qoida va me'yorlari talablariga muvofiq bo'lishi lozim. Korxonada mehnatning sog'lom va xavfsiz sharoitlarini ta'minlash, ishlab chiqarishning xavfli va zararli omillari ustida nazorat o'rnatilishini tashkil etish va nazoratning natijalari to'g'risida mehnat jamoalarini o'z vaqtida xabardor qilish kerak.

5. TABIATNI MUHOFAZA QILISH.

Respublikamizda kishloq xo'jalik xodimlari yer, suv, o'simlik va boshqa tabiiy resurslarni muhofaza qilish malakalari bilan shug'ullanadigan mutaxassislar qishloq xo'jaligi ishlab chiqarishning jarayonidan o'z faoliyatda tabiatni muhofaza qilishning asosiy qoidalariniga kiradi.

Qishloq xujaligida yerdan rasional foydalanish va ularni muhofaza qilish, almashlab yekishga to'g'ri rioya qilish, agrotexnika, gidrotexnika, o'rmon melorativ kompelksi tadbirlarini amalga oshirish yo'li bilan tuproq unumdorligini saqlash shular jumlasidandir.

Ishlab chikarishda usimlik va hayvonlarni zarakunandalar va kasalliklardan himoya qilishda ximiyaviy ximoya vositalaridan foydalanish qoidalariga qat'iy amal qilish qishloq xo'jaligi mahsulotlarida, tuproqda, suv manbalarida zaharli ximyoviy moddalarning to'planishga yo'l qo'ymaslik kerak.

Tabiiy muhitning ifloslanishi, uy hayvonlarining zaharlanish, foydali fauna, floraning halok bo'lishiga yo'l qo'ymasligi uchun zaharli ximiyaviy moddalarning tashish va saqlanish shuningdek, ulardan foydalanish metodikasiga qat'iy amal qilish. Pestisitlarni ishlatish qoidalariga alohida qat'iy amal qilish suvni muhofaza qiladigan zonalarda, baliq xo'jaligi suv havzalarida va ov qilinadigan joylarda amalga oshiriladi.

Atrofimizdagi tabiiy muhitni chorvachilik komplekslaridan chiqqan oqar suvlar va gung bilan ifloslanishiga yo'l qo'ymaslik kerak. Tuproq va suv manbalarining yuqumli kasalliklarni qo'zg'atuvchilari, neft mahsulotlari va boshqa chiqindilar bilan ifloslanishiga yo'l qo'ymaslik kerak. Daryolar va boshqa suv havzalarida molxonalar qurishni taqiqlash, qishloq xo'jaligi texnikasini daryo va ko'llarda qurishni ta'kiklangan.

Qishloq xo'jaligi soxasida taxsil olayotgan talabalar uchun tabiatni muhofaza qilishning tarbiyaviy ahamiyati katta, bu sohadagi bilimlarni axoli orasida keng propaganda va joriy qilish, bu bilimlar qishloq xo'jaligi ishlab chiqarishini rivojlantirish imkoniyatini yaratadi.

X U L O S A L A R

- 1. Biotexnologiyani zamonaviy texnologiyalaridan tugri foydalanish kishlok xujalik ekinlarini yangi navlarini yaratish, xosildorligini oshirish va maxsulot sifatini yaxshilashni samarali usullaridan biridir.**
- 2. Gen injeneryasini obykti sifatida kartoshka kulay imkonyatlarga ega. Bu kulayliklar ekinni vegetativ kupaytirilishi bilan, ya'ni gen injeneriyasi usullari bilan kulay tomonga uzlashtirilgan genetik strukturalarni meyozni keyingi tuganak repraduksiylalarida yuz bermasligi bilan boglik.**
- 3. Uzbekistonda kartoshkani virus kasalliklarini keng tarkalganligini, issik va kuruk tuprok- iklim sharoiti kartoshka urugchiligiga boshkacha yondoshishni talab etadi. Ya'ni sifatli uruglik yetishtirish, urugchilik sxemasini jadallashtirish, soglom dastlabki materialdan foydalanish va bunday usimliklarni yukori potensial imkoniyatlaridan samarali foydalanishni talab etadi.**
- 4. Kartoshkani uchki meristemasidan termoterapiya va ximoterapiya usullari bilan birgalikda ustirish virus, mikoplazma bakterial va zamburug kasalliklaridan soglom usimliklar olish imkonini beradi.**
- 5. Soglom usimliklar baland buyli, kup poyali, assimilyasiya yuzasini kupligi tufayli yukori potensial imkoniyatlarga ega buladi.**

6. Jaxondagi kup davlatlarda, shu jumladan Uzbekistonda olib borilgan tadqiqotlar shuni kursatadiki, uchki meristema usulida soglomlashtirish kartoshka urugchiligida dastlabki material yaratishni samarali usullaridan bulib, soglom usimliklarni yukori potensial imkoniyatlaridan foydalanish ularni proberkalarda, usimliklarni uchki kismi, kultik navdalari, usimtalari, usimta bulaklari va boshka mikroklonal usullar bilan jadal kupaytirishga boglik.

7. Soglomlashtirish natijasida usimliklarni genotipi uzgarmaydi. Shuning uchun ularni morfobiologik xususiyatlari prototipdan fark kilganligi uchun kartoshka urugchiligini xamma boskichlarida bunday usimliklarni kaytadan viruslar bilan zararlanishini oldini olishga karatilgan chora-tadbirlar kulanilishi kerak.

8. Uchki meristema usulida soglomlashtirilgan tuganaklardan kartoshka urugchiligida foydalanishni iktisodiy samaradorligi tuprok-iklim sharoiti, virus kasalliklarini tarkalish darajasi, elita yetishtirish sxemasi, navlarni biologik xususiyati, jumladan patogenlarga chidamliligi, soglom usimliklarni kaytadan viruslar bilan zararlanishni oldini olishga karatilgan tashkiliy, profilaktik, ximoya va agrotexnik tadbirlarni majmuasiga boglik.

Foydalanilgan adabiyotlar ro'yxati.

1. O'zbekiston Respublikasi hududida ekish uchun tavsiya etilgan qishloq xo'jalik ekinlari Davlat reyestri, T., 2000. 103 bet.
2. Ayala F. Vvedeniye v populyacionnuyu i evolyusionnuyu genetiku. M: Mir 1984. 227 str.
3. Azizxodjayev A., Umarov Z. M. Vliyaniye mikroizotopov na morfologiyu i razvitiye zarodyshey xlopchatnika in vitro//Y36. biol. j. 1985. №5. 49—50.

4. Alberts B. Brey D. Uotson Dj. Dr. Molekulyarnaya biologiya kletki. M. "Mir" 1994y. Tom I, 615 bet.
5. Artikova R., S. Murodova Qishloq xo'jalik biotexnologiyasi Toshkent 2010
6. Artikova R., S. Murodova Qishloq xo'jalik biotexnologiyasi Toshkent 2010
Selskoxozyaystvennaya biotexnologiya. Izbrannye rabot /Pod red. Sheveluxi B.C. «Yevraaziya», 2000 , 264 s.
7. Beker M.Ye., Liyepinsh G.K., Raypulis Ye.P. Biotexnologiya./ Moskva. «Agropromizdat», 1990,334 s.
8. Beker M.Ye., Liyepinsh G.K., Raypulis Ye.P. Biotexnologiya./ Moskva. «Agropromizdat», 1990,334 s.
9. Biologicheskiy insiklopedicheskiy slovar.M. Sovetskaya ensiklopediya, 1986 g, str225-226.
- 10.Biotexnologiya prinsp i primeneniye. Izd. «Mir», 1988-479 s
- 11.Biotexnologiya selskomu xozyaystvu. Pod redaksiyeyA.G.Lobanka. Minsk.: «Uradjay», 1988 g, 199 s.
- 12.Butenko R. G., Djerdemaliyev J. K., G a v r i l o v a N. F.
Kallusobrazuyushaya posobnost chksplantov iz raznx organov
razlichnx sortovozimoy pshenis//Fiziol. rast. T. 33, 1986. № 2. S.
350—355.
- 13.Biotexnologiya prinsp i primeneniye. Izd. «Mir», 1988-479 s.
- 14.Biotexnologiya v 8-mi knijkax pod redaksiyey Yegorova N.S. i Samuilova V.D. M. «Vsshaya shkola», 1987,141 s.
15. Biotexnologiya selskomu xozyaystvu. Pod redaksiyey
A.G.Lobanka. Minsk.: «Uradjay», 1988 g, 199 s.
16. Viyestur U. E., Leyte M. P., Sakse A. K., Sh m i t y e I. A. Protein
mikrobnoy mass iz vozobnovlyayemogo (fotosinteziruyemogo)
srya//Biotexnologiya. 1986. № 6. S. 1-12.
17. Vovkogon V.G. Inokulyasiya semyan bobovx kultur//Ximiya v selskom
xozyaystve. 1986. № 4. S. 13—15.
18. Grishayev I. D. Veterinarno-sanitarnye i prirodooxranitelnye

- meropriyatiya pri podgotovke i ispolzovaniiivotnovodcheskix stokov na selskoxozyaystvennx ugodyax//Koprologicheskiye aspekt promshlennogoivotnovodstva.— Ujgorod, 1985. S. 115 — 166.
19. Gud ilin I. I. Razrabotka nauchnx osnov malootxodnoy biotexnologiiivotnovodstva//Biol. nauki. 1985. № 12. S. 53—54.
 20. Grin N., Staut U., Teylor D., «Biologiya», tom 1., M., “Mir”., 1990 y., 11-12 betlar.
 21. Gilbert S. Biologiya razvitiya M. Mir. 1994y 235 bet.
 22. Derfling K. Gormon rasteniy. Sistemny podxod.— M.: Mir, 1985. 304 s.
 23. Yegorova N.S i Samuilova V.D. Biotexnologiya v 8-mi knijkax pod redaksiyey.M. «Vsshaya shkola», 1987,141 s.
 24. Jukovskiy P.M. Mirovoy genofond rasteniy dlya seleksii. L., Nauka, 1970. 87 bet.
 25. Igiatyei A. Ye. Rol nauchno-texnicheskogo progressa v oxrane okrujayushchey prirodnoy sred//Problem sovershenstvovaniya upravleniya oxranoy prirod. M., 1986. S. 38—41
 26. Kadar B. Dostijeniya biotexnologii — na blago cheloveka 'Mejdunar. s-x. jurn. 1986. № 4. S. 3—5
 27. Kazakova V. N., Ustyugov V. M., Poliyevktova E. G. Regulyator rosta zernovx//Zashita rasteniy. 1987. № 4. S. 22—23.
 28. Krugloye Yu. V. Mikrobiologicheskiye aspekt oxran pochv ot zagryazneniya pestisidami//Mikroorganizm v selskom xozyaystve.— M.: Izd-vo MGU, 1986. 20 s.
 29. Laptev Yu.G. «Biologik injeneriya», Toshkent. «Mehnat», 1990 y.
 30. Mextiyeva Ye. A., Shikimaka A. F., Jij i na A. S, M oxov a T. V. Polucheniye vsokoaktivnogo biopreparata tipa nitragina// Mikroorganizm v selskom xozyaystve.— M.: Izd-vo MGU, 1986. 32 s.
 31. Muromsev G. S. Fuzikoksin v gormonalnoy sisteme rasteniy//Vestnik s.-x. pauki. 1986. № 7. S. 70—76.

32. Muromsev G. S., Kokurin A. V., Pavlova Z. N. Antigibberellinovaya aktivnost retardantov i etilena//S.-x. biologiya. 1985. № 5. S. 112—115.
33. Mironenko M. A., Maxonko N. I. Gigiyenicheskiye aspekt ozdorovleniya okruzhayushchey sred v rayonaxivotnovodcheskix predpriyatiy/ /Koprologi-cheskiye aspekt promshlennogoivotnovodstva.— Ujgorod, 1985. S. 119-120.
34. Mishustin Ye. N. Biologicheskiy azot v selskom xozyaystve//Mikroorganizm v selskom xozyaystve.— M.: Izd-vo MGU, 1986. S. 3—6.
35. Muromsev G. S, Marshunova G. N., Pavlova V. F., Zolnikova N. V. Rol pochvennykh mikroorganizmov v fosfornom pitanii raste-niy//Uspexi mikrobiologii, 1985. № 20. S. 174—198.
36. Nikell L. Dj. Regulyator rosta rasteniy. Primeneniye v selskom xozyaystve.- M.: Kolos, 1984. 191 s. Osnov ximicheskoy regulyasii rosta i produktivnosti rasteniy.— M.: Agro-promizdat, 1987. 383 s.
37. Ogarkov V. I. Osnovnye biotexnologicheskiye problem mikrobiologicheskoy promshlennosti//Biotexnologiya. 1986. № 4. S. 1—6.
38. Ogarkov V. I., Kiselev O. I., Bkov V. A. Biotexnologicheskiye napravleniya ispolzovaniya rastitelnogo srya//Biotexnologiya. 1985. № 3. S. 1 — 15.
39. Osnov ximicheskoy regulyasii rosta i produktivnosti rasteniy.—M.: Agro-promizdat, 1987. 383 s.
40. Ostonaqulov T.E. Texnologiya vozdelvaniya i semenovodstvo kartofelya v Zaraf-shanskoy dolin. T., Mehnat, 1991, 163 bet
41. Promshlennaya biotexnologiya. Gorizont XII pyatiletki//Biotexnologiya. 1986. № 1. S. 1—6.
42. Pexov A.P., «Biologiya s osnovami ekologii», Sank-Peterburg., 2000 y., 15-26 betlar.

43. Rekomendasii po inokulyasii semyan bobovx kultur rizotorfinom/VPNO «Rosselkhozkhimiya». Vseross. nauchno-issled. i proyektno-texnol. in-t ximizasii selskogo xozyaystva. M., 1985. 17 s.
44. Sostoyaniye i perspektiv razvitiya proizvodstva mikrobnogo belka//Bio-texnologiya. 1986. № 5. S. 1—6
45. Sultonov YuS, Muromsev G. S. Uluchsheniye korneobrazovaniya rasteniy pod deystviyem fuzikoksina//Doklad VASXNIL. 1985, № 2. S. 5—6.
46. Slyusaryov A.A., «Biologiya s obshchey genetikoy», M., 1970 y., 5-11 betlar.
47. To'raqulov Ye.X. «Molekulyar biologiya», Toshkent. "O'qituvchi" 1993 y.
48. Uma rov M. M. Assosiativnaya azotfiksasiya,—M.: Izd-vo MGU, 1986. 132 s.
49. Xazapov Ye.Ye. Opredeleniye ekologicheskix bezopasnx razmerov jivotnovodcheskix kompleksov//Koprologicheskix aspekt promshlennogo jivotnovodstva.—Ujgorod. 1985. S. 120—121.
50. Xazin D. A. Polucheniye vysokobelkovx kormovx dobavok iz otxodov rastitelnogo srya//S.-x. nauka i proizvodstvo/Obzornaya inf.— M., 1985. № 2. S. 44 — 53.
51. Xazin V. D. Sovremennyye tendensii v proizvodstve mikrobiologicheskogo kormovogo belka//Vestnik s.-x. nauki. 1986. № 9. S. 138—140.
52. Xo'jamshukurov N.A. Bacillus thuringiensis yentomopotogen bakteriyasining mutant shtammlari asosida kolorado qo'ng'iziga (Leptinotarsa desemlineata Say L.) qarshi insektisid biopreparat yaratish (nomzodlik dissertasiya ishining avtoreferati), 2002 y.
53. Shiskova A. P., Ryazanova R. A. Ekologicheskix posledstviya primeneniya pestisidov i mer profilaktiki//Kompleksny globalny monitoring sostoyaniya biosfer.—L.: Gidrometeoizdat, 1986. T. 2. S. 81—85
54. Xo'jamshukurov N.A. Bacillus thuringiensis yentomopotogen bakteriyasining mutant shtammlari asosida kolorado qo'ng'iziga

- (*Leptinotarsa desemlineata* Say L.) qarshi insektisid biopreparat yaratish (nomzodlik dissertasiya ishining avtoreferati), 2002 y.
55. Sheveluxa B.C., Kovalev V. M., Gruzdev L. T., Blinovskiy I. K. Regulyator rosta rasteniy v selskom xozyaystve//Vestnik s.-x. nauki. 1985. № 9. S. 57—65.
56. Sheveluxi B.C. Selskoxozyaystvennaya biotexnologiya. Izbrannye rabot /Pod red. «Yevraaziya», 2000 , 264 s.
57. Egamberdiyev A.E. Indusirovannaya nasledstvennaya izmenchivost xlochatnika. T., Fan, 1984, 267 bet.
58. **Ergashev I.T. Bezvirusnoye smenovodstvo kartofelya. T. « Fan». 2006**
59. Ernst L. K., Prokofyev M. I., Prokofyeva Ye. S. i dr. Dozrevaniye i oplodotvoreniye oositov krupnogo rogatogo skota vne organizma i posleduyemye ix razvitiye v yaysevode krolika//Doklad VASXNIL. 1985. № 10. S. 23—26.
60. Austin S., Ehlenfeldt M. K., Baer M. A., Helgeson J. P. Somatic hybrids produced by protoplast fusion between *S. tuberosum* and *S.brevibens*: phenotypic variation under field conditions. Theor. and Appl. Genet. 1986,71, 5, 682—690.
61. Alexander M., New-York— London: Plenum press, 1984, 247. V o n n i e u x F. Les pollutions d'origine agricole.— Cultivar, 1986, 200, 167—169.
62. Ballio A., Carilli A., Santurbano V., Tuttobello L. Produzione di fusicoccina in scala pilota.—Ann Int. super, sanita, 1986
63. V a t h o n H. Die okologischen Folgen der intensiven Landwirtschaft fur di betroffenen Okosysteme.— Gesellschaft fur Verantwortung schiften 1985 3 109—132.
64. Brem G., Tenhumberg H., Kruff V., Kraublich H. Production of cattle chimerae through embryo microsurgery.— Theriogenology, 1985, 23, 182.
65. Butler J. E., Anderson G. V., Bon Ourant R. H., Pashen R. L. Production of ovine chimeras.— Theriogenology, 1985, 23, 183.

66. Bruinsma J. Growth regulators in horticulture.— *Scientific Horticulture*, 1985, 36, I—II.
67. Chupin O., Combarous Y., Procureur R. Different effect of LH On FSH — induced superovulation in two breeds of cattle.— *Theriogenology*, 1985, 23, 184.
68. Church R. V., Schaefe F. J., Meekling K. Embryo manipulation and gene transfer in livestock.— *Can. J. Anim. Sci.*, 1985, 65, 527—538
69. Cognie Y., Chupin O., Saumande J. Somparison of two FSH treatment schedules to induce superovulation in w ewes.— *Theriogenology*, 1985, 23, 185.
70. Critser E. S., Leibfried-Rutledge M. L., First N. L. Biology of reproduction, 1986, 34, 286.
71. D u m e r et. al. Expression of Alfalfa mosaic virus coat protein gene conferscross protection in transgenic tobacco and tomato plants. *EMBO*, 1987, 6, 5, 1181 — 1188 .
72. GalibaG., KovacsG, Sutka J. Substitution analysis of plant regeneration from callus culture in wheat. *Plant Breeding*, 1986, 97, 261—263.
73. Gorlitz H., Asmus F., Toepel E., N i e n d_p r f H. Humusversoegungdes Bodens als
74. Grudlage fur hohe tetreideertirage auf sandigen Boden -Feldwistschaft, 1986, 27, 10, 455—457.
75. G u n n R. E., Day P. R. In vitro culture in plant breeding In: *Plant tissue culture and its agricultural applications*, Ed. L. A. Withers, P. G. Alderson Butterworths, 1986, 313—336.
76. Hammer R. E., Pursel V. G., Rex road E. E., Wall R. J., Bolt O. J.Ebert K. M., Palmiter R. D., V r in ster R. L. Production of transgenic rabbit sheep and pigs by micro injection.— *Nature*, 1985, 315, 680—683
77. H a n a d a A., E n u a V., Suzuki T. Proceedings of the 78th Meeting of the Japanese Society of Zootechnical Science, 1986, 1 —36, 18. Hansel W.Milvae R. A. Compounds for regulating reproduction in domestic animals.— *Beltsville symposia in agricultural research*, 1985, 125 - 143.
78. Hill K. G., M s F a g 1 a n d S W., R o r i e R. W., V i k e r S. D., G o d k y e R. A. A single 50 mg injection of follide stimulating hormone (FSH) for superovulation of embryo donor cattle.— *Theriogenology*, 1985, 23, 196.

79. Hoffmann F. Standige Stroheinarbeitung Erfahrungen in Trockengebiet.—Doutsche Zuckerrubeen Zeitung, 1986, 22, 3, 6.
80. Hoffman W. Nitrate and die menschliche gesundheit,— BASF- Mitteiluncnfur den Landbau, 1986, 3, 3—31.
81. Jukes T. N. Frost resistance and Preudomonas. Nature, 1986, 319, 617.
82. Kaplan I. V., T a I i a n s k u M., M a l u s h e n k o V. I, Ogarkov V. I., Atabekov I. G. Effect of human interferon on reproduction of plant and mycoviruses. Archiv phytopatologie pflanzenschutz, 1987.
83. Klausner A. Monsanto betting a gigant on biotechnology. Biotechnol., 1986, 4, 403—406.
84. Klein S. A. Anaerobic digestion of solid wastes. Compost Scicns, 1972, 13, 1,6 K l i n g A. Umweltwirkungen der stiekstoffdungung.— Bayerisches Landwirtschaftliches Jahrsbuch, 1986, 63, 2, 179—198
85. K u n d l e r P. Wirtschaftsdunger und Ernteruckstande als Humuslieferanten.Bodenkultur, 1986, 37, 4, 293—307.
86. K r a u m l a u f R., Hammeg R. E., Tilgman S. M., Vrinster R. Developmental regulation of a-fetoprotein genes in transgenic mice Mol. Cell Biol.,1985, 5, 1639—1648.
87. Long R. D., Cassells A. C. Elimination of viruses from tissue culturesin the presence of antiviral chemicals. In Plant tissue culture and its agricultural applications, Ed. L. A. Withers, P. G. Alderson, Butterworths,1986, 239-248.
88. Loesch-Fries L. S., M e r I o D., Zinnen T., V u r h o p L., Hill K.,Krahn K., J a r v i s N., Nelson S., H a I k Ye. Expression of alfalfamosaic virus RNA in transgenic plants confers virus resistance. EMBO J., 1987,6, 1845—1851.
89. Les nitrates dans les eaux de boisson.—Terre Romande,1987, 21, 4, 15.
90. Lu K. H., Gordon I., McGovern H., Gallagher M. Production of cattle embryos by in vitro maturation and fertilixation of follicular oocytes and their subsequent culture in vivo in sheep.//Theriogenology, 1988, 29, 1, 272.
91. Lu K. H., Gordon I., Gallagher M., McGovern H. Pregnancy established

- in cattle by transfer of embryos derives from in vitro fertilisation of oocytes matured in vitro.//Veterinary Record, 1987, 121, 259 — 260.
92. Lovell-Badge R. H. Transgenic animals. New advances in the field.—Nature, 1985, 315, 628—630.
 93. Leib S. P. Field trial on one-step diluted frozen-thawed bovine embryos an update. — Theriogenology, 1985, 23, 201.
 94. Lindsell C. E., Pawlyshyn V., Bielanski A., Mapletoff R. J. Superovulation of heifers with FSH-P beginning on four different days of the cycle.— Theriogenology, 1985, 23, 203
 95. Negruk V. L., Eisner G. J., Redishkina T. D., Dumanskaya N. N., Cherny D. L., Alexandrov A. A., Shemyakin M. F., Butenko R. G. Diversity of *Vicia faba* circular mtDNA in whole plants and suspension cultures. TAG 1986, 72, 541—547
 96. O'Sonnell M. A., Hanson M. R. Regeneration of somatic hybrid plants formed between *Lycopersicon esculentum* and *Solanum rickii*. Theor. and Appl. Genet., 1986, 72, 59—65.
 97. Popov A. S. Cryoconservation and plant cell bank. In: Plant cell culture, Ed. R. G. Butenko, Moscow, Mir, 1985, 175—198. Page 186. Biotechnology, 1986
 98. Pettit W. H., Jr. Commercial freezing of bovine embryos in glass ampules.—Theriogenology, 1985, 23, 13—16.
 99. Prather R. S., Frank L. V., Sims M. M., Simrobl M., Evestone W. N., First N. L. Nuclear transplantation in the bovine embryo: Assessment of donor nuclei and recipient oocyte.//Biology of Reproduction, 1987, 37, 859—866.
 100. Rorie R. W., Voelkel S. A., McFarland S. W., Southern L. L., Godke R. A. Micromanipulation of day-6 porcine embryos to produce split-embryo piglets.— Theriogenology, 1985, 23, 225

101. Schiewe M. C, Voelker S. A., Godke R. A. Artificial insemination of superovulated beef cattle with a single insemination of frozen semen.—Theriogenology, 1985, 23, 228.
102. Sirard M. A., Lambert R. D., Menard D. P., Veda A. Pregnancies resulting from in vitro fertilization of bovine follicular oocytes following their incubation in rabbits oviduct and their transfer to the cow uterus.//Biology of Reproduction, 1985, 32, Supp., 39
103. San Martin P. G., Ortubia M. G., Rubio T., Asta J. A. B. Estudio preliminar del impacto ambiental de una gran explotacion ganadera.—Rev. Extension Agr., 1986, 4, 85—90.
104. Schaessler L. Cutting nitrate loss.— Farm chemicals, 1986, 149, 6, 17.
105. Sever D. J. Involuntary exposure to pesticides from agricultural use.— Beltsville symposia in Agr. research, 1985, 8, 403—410.
106. Sun M. Focus on viruses. Sciences, 1985, 228, 1294—1296.
107. Sharma H. C, Gill B. S. Effect of embryo age and culture media on plain
Sidorov V. A., Zubko M. K., Kuchko A. G, Leba Yu. Yu. Somatic hybridization of (in press), 1987.
108. Sundberg E., Glielikus K. A. method for production of interspecific hybrids within Brassicaceae via somatic hybridization, using resynthesis of Brassica napus as a model. Plant Sci., 1986, 43, 2, 155—162.
109. Theather Ron M. Application of gene manipulation to rumen microflora. Can. J. Anim. Sci., 1985, 65, 563—574.
110. Tikshonenko T. I., Gushakova S. E., Kisilina O. S., Ggodnitskaya N. A., Naroditsku V. S. Transfer of condensed viral DNA into eukaryotic cells using proteoliposome. Gene, 1988, 63, 321—330.

111. Takahashi Y., Kanagawa H. Induction of superovulation using several FSH regimes in Holstein — Frisian heifers.— Jap. J. Veter Res., 1985, 33,45—50.
112. Wall K. J., Pursell V. G., Hammer R. E., Vrinster R. L. Development of porcine ova that were centrifuged to permit visualization of pronucle: and nuclei,— Biol. Reprod., 1985, 32, 645—651.
113. Willadsen S. M. Nuclear transplantation in sheep embryos/ZNature, 1986,320, 63—65.
114. Wright J. M. Commercial freezing of bovine embryos in straws.— Theriogenologj 1985, 23, 17—29.
115. Yada v M. C, Leslie K. E., Walton J. S. A study of methods for bisectin rabbit embryos.— Theriogenology, 1985, 23, 237.

INTERNET MA'LUMOTLARI

Раздел "Культуры растительных клеток"

Клеточная селекция

Методы клеточной селекции

Одно из направлений клеточных технологий — это использование их в селекции, которое облегчает и ускоряет традиционный селекционный процесс в создании новых форм и сортов растений. Существующие методы культивирования изолированных клеток и тканей *in vitro* условно можно разделить на две группы.

Первая группа — это вспомогательные технологии, которые не подменяют обычную селекцию, а служат ей. К ним можно отнести: оплодотворение *in vitro* (преодоление прогамной несовместимости), культивирование семяпочек и незрелых гибридных зародышей (преодоление постгамной несовместимости), получение гаплоидов путем культивирования пыльников и микроспор, криосохранение изолированных клеток, тканей и органов, клональное микроразмножение отдаленных гибридов.

Вторая группа методов ведет к самостоятельному, независимому от традиционных методов селекции, получению новых форм и сортов растений: клеточная селекция с использованием каллусной ткани, соматическая гибридизация (слияние изолированных протопластов и получение неполовых гибридов), применение методов генной инженерии.

В отдаленной гибридизации находят применение такие методы культуры изолированных тканей, как оплодотворение *in vitro*, эмбриокультура (выращивание изолированных зародышей на искусственных питательных средах), клональное микроразмножение ценных гибридов, а также получение гаплоидов *in vitro* и криосохранение.

Оплодотворение *in vitro* (преодоление прогамной несовместимости) проводится в том случае, когда невозможно осуществить оплодотворение между выбранными парами в естественных условиях. Это вызвано несколькими причинами: 1) физиологические (несоответствие во времени созревания пыльцы и т. д.); 2) морфологические (короткая пыльцевая трубка или блокирование роста ее на разных этапах развития и т. д.).

Оплодотворение *in vitro* можно осуществить двумя способами: а) культивирование на искусственной агаризованной питательной среде завязи с нанесенной на нее готовой пыльцой; б) завязь вскрывается и на питательную среду переносятся кусочки плаценты с семяпочками, вблизи которых или непосредственно на ткани плаценты культивируется готовая пыльца. Визуально определить, прошло оплодотворение *in vitro* или нет, можно по быстро увеличивающимся в размерах семяпочкам. Сформировавшийся зародыш, как правило, не переходит в состояние покоя, а сразу прорастает и дает начало гибридному поколению. Плацентарное оплодотворение *in vitro* позволило преодолеть несовместимость в скрещивании сортов

Другие главы раздел

Культуры клеток выс

Новые экспериментал

для изучения синтеза

метаболитов с испол

культуры тканей рас

Протопласты расти

как объект биологиче

конструирования

Конструирование кле

Клональное микроразм

оздоровление растен

Создание искусственн

культивируемых клет

растений с микроорга

Методы сохранения г

Бесклеточные систем

Литература к раздел

Реклама

культурного табака *N. tabacum* с дикими видами *N. rosulata* и *N. debneyi* и сделало возможным получение межвидовых гибридов табака в опытах М.Ф. Терновского и др. (1976), Шинкаревой (1986).

Постгамная несовместимость при отдаленной гибридизации возникает после оплодотворения. Часто при этом образуются щуплые невсхожие семена. Причиной может быть расхождение во времени развития зародыша и эндосперма. Из-за слабого развития эндосперма зародыш бывает неспособен к нормальному прорастанию. В таких случаях из зрелой щуплой зерновки изолируют зародыш и выращивают его в питательной среде.

Выращивание зародышей в искусственной питательной среде называется **эмбриокulturой**. Среда для выращивания зрелого зародыша может быть простой, без добавок физиологически активных веществ (например, среда Уайта) или любая другая, содержащая минеральные соли и сахарозу. При более отдаленных скрещиваниях нарушения в развитии зародыша могут наблюдаться уже на ранних этапах, что выражается в отсутствии дифференцировки, замедленном росте. В этом случае культура зародыша состоит из двух этапов — эмбрионального роста зародыша, во время которого продолжается его дифференцировка, и прорастания подросшего зародыша. Для первого этапа требуется более сложная по составу среда с повышенным содержанием сахарозы, с добавками различных аминокислот, витаминов и гормонов.

Применение эмбриокультуры в селекции приобретает в последнее время большое значение для получения отдаленных гибридов зерновых, злаковых и других сельскохозяйственных культур. Показана возможность увеличения выхода пшенично-ржаных гибридов путем доразращивания незрелых зародышей, а также использования эмбриокультуры для преодоления постгамной несовместимости при гибридизации пшеницы с колосняком.

Метод эмбриокультуры находит все более широкое применение в межвидовой гибридизации овощных растений. Для лука разработаны приемы выращивания *in vitro* abortивных зародышей от гибридных семян с разных этапов эмбриогенеза, выращивание зародышей от частично фертильных межвидовых гибридов. Культура изолированных зародышей используется в селекции томатов и других овощных растений.

Исследована гормональная регуляция роста и развития зародышей томата *in vitro*. Обсуждается возможность применения эмбриокультуры для получения отдаленных гибридов подсолнечника, изучаются факторы, контролирующие рост и развитие *in vitro* зародышей подсолнечника, выделенных в разные сроки после опыления.

Культура изолированных зародышей как вспомогательный метод при отдаленной гибридизации применяется не только для преодоления постгамной несовместимости, но также с целью микроразмножения ценных гибридов. В этом случае микроразмножение идет путем каллусогенеза, индукции морфогенеза и получения растений-регенерантов из каллусной ткани. Техника клонирования незрелых зародышей позволяет размножать ценные генотипы растений на ранних стадиях жизненного цикла. Еще одна возможность применения культуры зародышей — использование ее в клеточной селекции.

Читать дальше ► [генетические основы клеточной селекции](#)



Раздел "Культуры растительных клеток"

Клеточная селекция

Генетические основы применения культуры клеток растений в селекционных целях

Клетки в культуре *in vitro* отличаются по морфологии, по биохимическим свойствам, по физиологическому состоянию и генетически. Разнообразие (вариабельность) среди клеточных линий или растений-регенерантов называют соматклональной вариабельностью. Генетическая природа и механизм возникновения соматклональной изменчивости пока мало изучены. Однако четко можно выделить зависимость возникновения соматклональных вариантов, прежде всего, от генетической гетерогенности соматических клеток исходного экспланта, генетической и эпигенетической изменчивости, индуцируемой условиями культивирования *in vitro*, а также от генотипа и исходного экспланта.

Полиморфизм культивируемых клеток можно объяснить видовыми и возрастными особенностями, уровнем пloidности, влиянием состава питательной среды и условий культивирования, отсутствием коррелятивных связей. Последний фактор, ведущий к нарушению жесткой регуляции, существовавшей в целом растении, видимо, является основной причиной спонтанной изменчивости клеток *in vitro*.

Любой фрагмент растения представляет собой мозаику различных тканей, и в зависимости от того, какая ткань даст начало каллусу, возникшие даже из одинаковых эксплантов каллусы будут гетерогенными и отличающимися друг от друга. Одинаковых, в полном смысле, эксплантов в природе быть не может, следовательно, неоднородность исходного материала (видовая, возрастная, физиологическая) предопределяет разнокачественность клеток в культуре.

Физиологическая гетерогенность состоит в том, что клетки в популяции находятся в разном физиологическом состоянии, т. е. делятся, растут, стареют, погибают. Такая культура называется асинхронной. Заставить популяцию клеток высших растений проходить фазы клеточного цикла одновременно, т. е. синхронизировать их, почти невозможно. Потому что та часть клеток, которая способна в данный момент к делению, составляет 2—4%. Неблагоприятные условия (низкая температура, исключение важных компонентов питания), задерживающие деление, в какой-то степени способствуют накоплению числа клеток, готовых к делению. Более эффективны некоторые химические вещества, блокирующие определенные стадии подготовки к делению. В лучших случаях синхронизация может быть достигнута у 10—30% клеток, но при последующих делениях популяция опять быстро утрачивает синхронность.

Следует подчеркнуть, что физиологическая вариабельность клеток в суспензионной культуре меньше по сравнению с культурой каллусной ткани на

Другие главы раздел
Культуры клеток выс

Новые экспериментал
для изучения синтеза
метаболитов с испол
культуры тканей рас

Протопласты расти
как объект биологиче
конструирования

Конструирование кле

Клональное микроразм
оздоровление растени

Создание искусственн
культивируемых клет
растений с микроорга

Методы сохранения г

Бесклеточные систем

Литература к раздел

Реклама

агаре, что связано с более однородными условиями питания, аэрации и удаления токсических метаболитов из клеточного окружения в жидкой перемешиваемой среде.

Гетерогенность культивируемых клеток обусловлена генетической, эпигенетической и модификационной изменчивостью. Генетические, или мутационные, изменения приводят к изменению генотипа, которое может быть унаследовано. Мутации (изменения количества или структуры ДНК) происходят на генном, хромосомном и геномном уровнях.

Генная, или точечная, мутация означает изменение структуры ДНК в одном локусе. Генные мутации приводят к сильным или слабым изменениям морфологических, биохимических и физиологических свойств клетки. Мутации, возникающие в результате изменения макроструктуры хромосом, называются хромосомными мутациями, или хромосомными абберациями (перестройками). Структурные перестройки хромосом возникают в результате инверсии, делеции, дупликации, транслокации и транспозиции. Геномные мутации связаны с изменением числа хромосом в ядре, т. е. с изменениями в кариотипе.

Все виды названных генетических изменений имеют место у клеток *in vitro*. Наиболее подробно исследована хромосомная изменчивость клеток *in vitro*. Даже клетки одной и той же ткани, выращиваемые в одном сосуде, могут значительно различаться между собой по хромосомным наборам (диплоидные, полиплоидные, анеуплоидные). Причины генетической изменчивости многообразны: 1) нарушение коррелятивных связей при выделении первичного экспланта из растения, т. е. отсутствие организменного контроля; 2) действие компонентов среды; 3) влияние продуктов метаболизма, накапливающихся в среде; 4) гетерогенность исходного материала и селекция клеток определенного типа.

Хромосомная изменчивость является результатом нарушений митоза, называемых эндомиозом и эндоредупликацией. При эндомиозе происходит спирализация хромосом и начинается митоз, но нарушается веретено деления, сохраняется оболочка ядра, хромосомы не расходятся и деспирализуются внутри ядерной оболочки. Это приводит к возрастанию числа хромосом, увеличению размеров ядра и клеток. Эндоредупликация не сопровождается образованием хромосом и делением ядра, хотя содержание ДНК в ядре тоже увеличивается. К образованию полиплоидных и анеуплоидных клеток также приводят нарушения в митозе, связанные с неправильным распределением хромосом.

Клетки различного уровня плоидности различаются по скорости деления и роста, по устойчивости к неблагоприятным воздействиям, начинают конкурировать, и одни из них начинают преобладать. Такой процесс возрастания доминирования в популяции клеток определенного типа называется клеточной селекцией. Доминирование может быть вызвано преимущественной пролиферацией одних клеток или успешной элиминацией (удалением) других. Такую селекцию правильнее называть автоселекцией, потому что она протекает спонтанно, без специального воздействия какими-либо стрессовыми факторами. В процессе автоселекции формируется наиболее приспособленный к данным условиям кариотип. Вероятно, клетки

приспосабливаются к новым условиям существования путем отбора более жизнеспособных полиплоидных клеток. Интересно, что изменение условий выращивания меняет направление отбора. Показано, например, что высокие концентрации 2,4-Д и кинетина увеличивают возможность полиплоидизации.

То, что условия выращивания играют важную роль в формировании цитогенетической гетерогенности, хорошо видно из опытов с тканью гаплопаппуса. В лаборатории Р.Г. Бутенко в течение двух лет культивировались меристематические клетки этого растения, пассажи проводились раз в месяц. В итоге исходные диплоидные клетки на 95% приобрели другие уровни пloidности. Шведский исследователь Т. Эрикссон, работая с этой же тканью, пересаживал ее на свежую питательную среду через каждые 2 дня. При этом штамм сохранил стабильную диплоидную характеристику. Однако способ выращивания не может полностью гарантировать генетическую стабильность в популяции клеток, так как генетической гетерогенностью может обладать сам исходный материал. У многих растений дифференцированные ткани имеют клетки разной пloidности. Специализированные клетки, например клетки зеленой ассимилирующей паренхимы листа, запасющих тканей мясистых корней, клубней, зачастую являются полиплоидными.

Спонтанное или индуцированное каким-либо фактором образование различных вариантных форм растений можно использовать для улучшения уже существующих сортов сельскохозяйственных культур.

Как было отмечено, клетки *in vitro* становятся разнокачественными также благодаря эпигенетическим изменениям, т. е. изменениям в программе считки генов или потенции к их активации. Эти изменения генной активности являются наследуемыми.

К ненаследуемым изменениям у клеток в культуре относятся модификационные изменения, которые в большинстве носят адаптивный, приспособительный характер. Эти изменения не затрагивают генетических структур клетки, они соответствуют физиологической адаптации, при которой границы изменений не превышают норму реакции, обусловленной генотипом.

Гетерогенность клеток *in vitro* возрастает с увеличением продолжительности их культивирования. Различные типы морфогенеза — соматический эмбриогенез или органогенез — также могут по-разному сказываться на генетических изменениях и, соответственно, на фенотипе растений. Экспериментально установлено, что при соматическом эмбриогенезе время прохождения цикла клетка — растение значительно короче, чем при органогенезе, поэтому степень сходства получаемого материала и исходного родительского генотипа может быть значительно выше.

Соматоклональные варианты имеют, несомненно, практическое применение в сельскохозяйственной практике, в силу появления форм, отличающихся от родительских по различным биохимическим, качественным и количественным признакам, а также цитогенетическим характеристикам. Например, получены соматоклоны картофеля сорта Зарево, отличающиеся высокой урожайностью, повышенной устойчивостью к заболеваниям, более высоким содержанием в клубнях протеина и крахмала. Причем наследование важных признаков при размножении клубнями сохранялось в течение трех лет полевых испытаний (В.В. Сидоров и др., 1984, 1985). Для растений табака получены через

каллусную культуру соматклоны, устойчивые к вирусу табачной мозаики. В настоящее время метод культуры тканей начал широко использоваться в селекции не только кормовых и технических культур, но и декоративных и лекарственных растений. Примером тому может служить новый сорт пеларгонии Velvet Rose, полученный через каллусную культуру.

Таким образом, полученные положительные результаты свидетельствуют о необходимости более эффективного внедрения различных приемов получения соматклональных вариантов в практику селекционной работы, и наиболее реальным является применение соматклональной изменчивости для улучшения или «доработки» уже существующих сортов или линий по отдельным недостающим признакам.

Несмотря на то, что существует генетическая нестабильность культур изолированных тканей и клеток растений, она не может обеспечить потребности селекционеров в генетическом разнообразии. В связи с этим для ускорения селекционного процесса в культуре клеток используются химические и физические мутагены. Обработка ткани раувольфии змеиной азотистым ипритом в концентрации $2,5 \cdot 10^{-3}$ М привела к повышению уровня аббераций хромосом в первом пассаже до 32%, вызвала сдвиг популяции в сторону увеличения триплоидов. В результате удалось получить штамм с более высокой биосинтетической активностью по сравнению с исходной тканью.

Спонтанный и индуцированный мутагенез в культуре клеток, тканей и протопластов позволяет получать растения, представляющие практический интерес для селекционеров. Важное практическое значение имеет создание форм растений, устойчивых к неблагоприятному действию факторов внешней среды, таких как низкие температуры, засоление почв, загрязнение природной среды токсическими веществами, поражение вредителями и возбудителями болезней. Эти факторы могут быть использованы в качестве селективного фона в процессе клеточной селекции. Клетки, сохранившие при этом жизнеспособность, могут быть регенерированы в целые растения.

Принципиальной разницы в результатах клеточной селекции при спонтанном и индуцированном мутагенезе нет. Для повышения частоты мутаций в соматических клетках обычно используют такие мутагены, как нитрозогуанидин, нитрозометилмочевина, метилметансульфонат. Реже применяют облучение ультрафиолетом, γ -квантами ^{60}Co и нейтронами.

В качестве селективных агентов используют антибиотики, ингибиторы синтеза нуклеиновых кислот, аналоги пуриновых и пиримидиновых оснований, фито- и патотоксины, агенты, вызывающие солевой и водный стресс, аналоги аминокислот и т.д.

Для проведения клеточной селекции используют следующие приемы:

- прямая (позитивная) селекция, при которой выживает лишь определенный искомый мутантный тип клеток;
- непрямая (негативная) селекция, основанная на избирательной гибели делящихся клеток дикого типа и выживания метаболически неактивных клеток, но требующая дополнительной идентификации у них мутационных изменений;

- тотальная селекция, при которой индивидуально тестируются все клеточные клоны;
- визуальная селекция и неселективный отбор, когда вариантная линия может быть идентифицирована среди всей популяции клеток визуально или при использовании биохимических методов (тонкослойная или жидкостная хроматография, радиоиммунный анализ, микроспектрофотометрия и др.).

Из перечисленных выше приемов клеточной селекции прямая селекция является наиболее распространенным методом и используется главным образом для выделения растений-регенерантов, устойчивых, например, к гербицидам, антибиотикам, токсинам, тяжелым металлам, солям и другим антиметаболитам.

Читайте дальше ► [типы клеточных культур в биотехнологической селекции](#)

Раздел "Генная инженерия"

Введение в генетическую инженерию

Возможности генной инженерии

Важной составной частью биотехнологии является генетическая инженерия. Родившись в начале 70-х годов, она добилась сегодня больших успехов. Методы генной инженерии преобразуют клетки бактерий, дрожжей и млекопитающих в "фабрики" для масштабного производства любого белка. Это дает возможность детально анализировать структуру и функции белков и использовать их в качестве лекарственных средств.

В настоящее время кишечная палочка (*E. coli*) стала поставщиком таких важных гормонов как инсулин и соматотропин. Ранее инсулин получали из клеток поджелудочной железы животных, поэтому стоимость его была очень высока. Для получения 100 г кристаллического инсулина требуется 800-1000 кг поджелудочной железы, а одна железа коровы весит 200 - 250 грамм. Это делало инсулин дорогим и труднодоступным для широкого круга диабетиков. В 1978 году исследователи из компании "Генентек" впервые получили инсулин в специально сконструированном штамме кишечной палочки. Инсулин состоит из двух полипептидных цепей А и В длиной 20 и 30 аминокислот. При соединении их дисульфидными связями образуется нативный двухцепочечный инсулин. Было показано, что он не содержит белков *E. coli*, эндотоксинов и других примесей, не дает побочных эффектов, как инсулин животных, а по биологической активности от него не отличается. Впоследствии в клетках *E. coli* был осуществлен синтез проинсулина, для чего на матрице РНК с помощью обратной транскриптазы синтезировали ее ДНК-копию. После очистки полученного проинсулина его расщепили и получили нативный инсулин, при этом этапы экстракции и выделения гормона были сведены к минимуму. Из 1000 литров культуральной жидкости можно получать до 200 граммов гормона, что эквивалентно количеству инсулина, выделяемого из 1600 кг поджелудочной железы свиньи или коровы.

Соматотропин - гормон роста человека, секретируемый гипофизом. Недостаток этого гормона приводит к гипофизарной карликовости. Если вводить соматотропин в дозах 10 мг на кг веса три раза в неделю, то за год ребенок, страдающий от его недостатка, может подрасти на 6 см. Ранее его получали из трупного материала, из одного трупа: 4 - 6 мг соматотропина в пересчете на конечный фармацевтический препарат. Таким образом, доступные количества гормона были ограничены, кроме того, гормон, получаемый этим способом, был неоднороден и мог содержать медленно развивающиеся вирусы. Компания "Genentec" в 1980 году разработала технологию производства соматотропина с помощью бактерий, который был лишен перечисленных недостатков. В 1982 году гормон роста человека был получен в культуре *E. coli* и животных клеток в институте Пастера во Франции, а с 1984 года начато промышленное производство инсулина и в СССР. При производстве интерферона используют как *E. coli*, *S. cerevisiae* (дрожжи), так и культуру фибробластов или трансформированных лейкоцитов. Аналогичными методами получают также безопасные и дешевые вакцины.

На технологии рекомбинантных ДНК основано получение высокоспецифичных ДНК-зондов, с помощью которых изучают экспрессию генов в тканях, локализацию генов в хромосомах, выявляют гены, обладающие родственными функциями (например, у человека и курицы). ДНК-зонды также используются в диагностике различных заболеваний. Технология рекомбинантных ДНК сделала возможным нетрадиционный подход "белок-ген", получивший название "обратная генетика". При таком подходе из клетки выделяют белок, клонируют ген этого белка, модифицируют его, создавая мутантный ген, кодирующий измененную форму белка. Полученный ген вводят в клетку. Если он экспрессируется, несущая его клетка и ее потомки будут синтезировать измененный белок. Таким образом можно исправлять дефектные гены и лечить наследственные заболевания.

Если гибридную ДНК ввести в оплодотворенное яйцеклетку, могут быть получены трансгенные организмы, экспрессирующие мутантный ген и передающие его потомками. Генетическая трансформация животных позволяет установить роль отдельных генов и их белковых продуктов как в регуляции активности других генов, так и при различных патологических процессах. С помощью генетической инженерии созданы линии животных, устойчивых к вирусным заболеваниям, а также породы животных с полезными для человека признаками. Например, микроинъекция рекомбинантной ДНК, содержащей ген соматотропина быка в зиготу кролика позволила получить трансгенное животное с гиперпродукцией этого гормона. Полученные животные обладали ярко выраженной акромегалией. Сейчас даже трудно предсказать все возможности, которые будут реализованы в ближайшие несколько десятков лет.

Раздел "Культуры растительных клеток"

Протопласты растительных клеток как объект биологического конструирования

Применение изолированных протопластов

Протопласты являются уникальной моделью для изучения фундаментальных физиологических проблем у растений. Они незаменимы при изучении состава, структуры и функционирования плазмалеммы в норме и при воздействии на нее гормонами, ингибиторами, фитотоксинами, а также при взаимодействии самих протопластов в популяции. Кроме того, протопласты могут использоваться для определения состава и архитектоники первичной клеточной стенки и изучения механизма ее репарации после разрушения.

На схеме (рис. 15) представлены основные направления физиологических исследований с использованием культуры изолированных протопластов.

Таким образом, изолированные протопласты имеют ряд областей применения, как теоретического, так и прикладного характера:

1. Изучение химии и структуры клеточной стенки (и при разрушении, и при синтезе «de novo»).
2. Изучение свойств плазмалеммы, трансмембранных перемещений.
3. «Мягкое» выделение органелл.
4. Наблюдение за закономерностями дифференцировки клеток при слиянии протопластов, отслеживание взаимодействия ядра и цитоплазмы в полученной гибридной клетке, изучение соматических гибридов.
5. Введение чужих органелл.
6. Введение чужеродных генов в растительную клетку (трансгенез).

[Другие главы](#)

[Культуры клеток растений](#)

[Новые экспериментальные системы для синтеза вторичных метаболитов и использования тканей растений](#)

[Конструирование](#)

[Клеточная культура](#)

[Клональное микроразмножение и оздоровление](#)

[Создание искусственных ассоциаций клеток высших микроорганизмов](#)

[Методы сохранения генофонда](#)

[Бесклеточные культуры](#)

[Литература](#)

Реклама

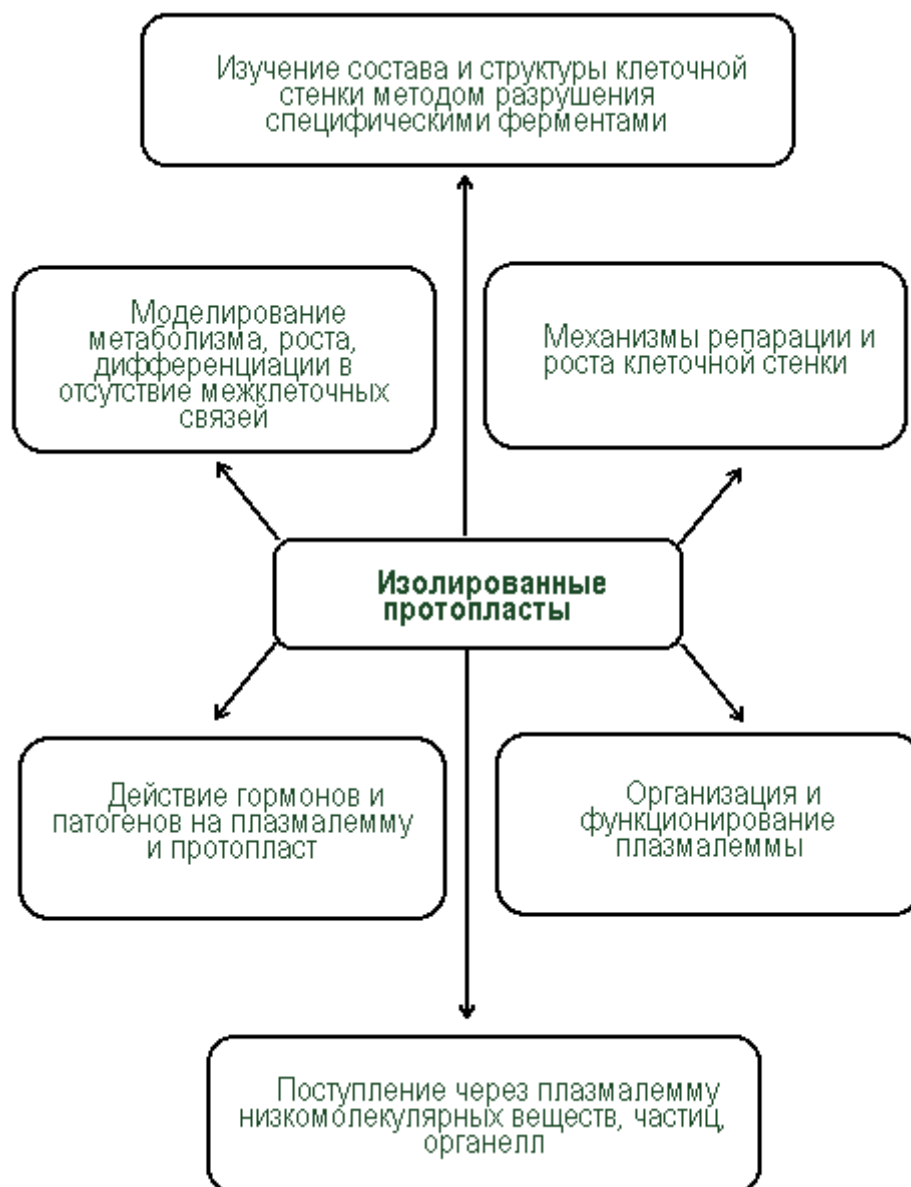


Рис. 15. Изолированные протопласты – объект и модель в физиологических исследованиях (по Р.Г. Бутенко, 1981)

Читать дальше ► [как выделить растительные протопласты](#)

Раздел "Культуры растительных клеток"

Протопласты растительных клеток как объект биологического конструирования

Применение изолированных протопластов

Протопласты являются уникальной моделью для изучения фундаментальных физиологических проблем у растений. Они незаменимы при изучении состава, структуры и функционирования плазмалеммы в норме и при воздействии на нее гормонами, ингибиторами, фитотоксинами, а также при взаимодействии самих протопластов в популяции. Кроме того, протопласты могут использоваться для определения состава и архитектоники первичной клеточной стенки и изучения механизма ее репарации после разрушения.

На схеме (рис. 15) представлены основные направления физиологических исследований с использованием культуры изолированных протопластов.

Таким образом, изолированные протопласты имеют ряд областей применения, как теоретического, так и прикладного характера:

1. Изучение химии и структуры клеточной стенки (и при разрушении, и при синтезе «de novo»).
2. Изучение свойств плазмалеммы, трансмембранных перемещений.
3. «Мягкое» выделение органелл.
4. Наблюдение за закономерностями дифференцировки клеток при слиянии протопластов, отслеживание взаимодействия ядра и цитоплазмы в полученной гибридной клетке, изучение соматических гибридов.
5. Введение чужих органелл.
6. Введение чужеродных генов в растительную клетку (трансгенез).

Раздел "Культуры растительных клеток"

Микроклональное размножение и оздоровление растений

Преимущества микроклонального размножения перед традиционными способами размножения растений. История метода

В природе существует два способа размножения растений: половой (семенной) и вегетативный. Оба эти способа имеют как свои преимущества, так и недостатки.

К недостаткам семенного размножения относятся генетическая пестрота семенного материала и длительность ювенильного периода.

При вегетативном размножении генотип материнского растения сохраняется, а также сокращается длительность ювенильного периода. Однако большинство видов плохо размножается вегетативным способом, к ним относятся многие древесные породы.

Другие главы

[Культуры клеток растений](#)

[Новые экспериментальные системы для синтеза вторичных метаболитов и использования тканей растений](#)

[Конструирование](#)

[Клеточная культура](#)

[Клональное микроклональное оздоровление](#)

[Создание искусственных ассоциаций клеток высших микроорганизмов](#)

[Методы сохранения генофонда](#)

[Бесклеточные культуры](#)

[Литература](#)

Реклама

Например, эффективность размножения, даже на ювенильной стадии, дуба, сосны, ели, орехоплодных не очень высока. Кроме того, с помощью черенкования невозможно размножать многие виды древесных растений в возрасте старше 10-15 лет. Трудно получить стандартный посадочный материал, так как существует возможность накопления и передачи инфекции. Операции по размножению с помощью прививок сложны и трудоемки.

Достижения в области культуры клеток и тканей привели к созданию принципиально нового метода вегетативного размножения - клонального микроразмножения. Клональное микроразмножение - получение *in vitro*, неполовым путем, генетически идентичных исходному экземпляру растений. В основе метода лежит уникальная способность растительной клетки реализовывать присущую ей тотипотентность. Термин "клон" был предложен в 1903 году Уэбстером (от греческого klon - черенок или побег, пригодный для размножения растений). В соответствии с научной терминологией клонирование подразумевает получение идентичных организмов из единичных клеток. Этот метод имеет ряд преимуществ перед существующими традиционными способами размножения:

- получение генетически однородного посадочного материала;
- освобождение растений от вирусов за счет использования меристемной культуры;
- высокий коэффициент размножения (10^5 - 10^6 - для травянистых, цветочных растений, 10^4 - 10^5 - для кустарниковых древесных растений и 10^4 - для хвойных);
- сокращение продолжительности селекционного процесса;
- ускорение перехода растений от ювенильной к репродуктивной фазе развития;
- размножение растений, трудно размножаемых традиционными способами;
- возможность проведения работ в течение всего года;
- возможность автоматизации процесса выращивания.

Пионером клонального микроразмножения считается французский ученый Жан Морель, который в 50-х годах двадцатого века получил первые растения - регенеранты орхидей. В это время техника культивирования апикальных меристем *in vitro* была уже хорошо разработана. Как правило, исследователи в качестве первичного экспланта использовали верхушечные меристемы травянистых растений: гвоздики, хризантемы, подсолнечника, гороха, кукурузы и т.д. В нашей стране работы по клональному микроразмножению были начаты в 30-х годах в лаборатории культуры тканей и морфогенеза ИФРа. Под руководством Р.Г.Бутенко были изучены условия микроразмножения картофеля, сахарной свеклы, гвоздики, герберы и др. растений и предложены промышленные технологии. В дальнейшем исследования по клональному микроразмножению охватили и древесные растения.

Первые работы по культуре тканей древесных растений были опубликованы в середине 20-х годов нашего столетия и связаны с именем Готре, который показал, что камбиальные ткани некоторых растений способны к каллусогенезу *in vitro*. Но первые растения - регенеранты осины, доведенные до почвенной культуры, были получены лишь в середине 60-х годов Матесом.

Культивирование тканей хвойных пород *in vitro* долгое время редко использовалось как

объект исследования. Это было связано со специфическими трудностями культивирования тканей, изолированных из растения. Известно, что древесные, и особенно хвойные растения характеризуются медленным ростом, трудно укореняются, содержат большое количество вторичных соединений (фенолы, терпены и т.д.), которые в изолированных тканях активируются. Окисленные фенолы обычно ингибируют деление и рост клеток, что ведет к гибели первичного экспланта или уменьшению способности тканей древесных растений к регенерации адвентивных почек, которая с возрастом растения-донора исчезает практически полностью. В настоящее время, несмотря на перечисленные трудности, насчитывается более 200 видов древесных растений из 40 семейств, которые были размножены *in vitro* (каштан, дуб, береза, клен, сосна, ель, секвойя и др.).

Посмотреть презентацию [микрклональное размножение растений](#)

Читать дальше ► [факторы микрклонального размножения](#)

Раздел "Культуры растительных клеток"

Клеточная селекция

Преимущества клеточной селекции перед традиционными селекционными методами

По сравнению с экспериментальным мутагенезом на уровне целых растений метод мутагенеза на уровне клеток имеет ряд преимуществ:

- экономится площадь, так как в одной чашке Петри диаметром 10 см можно культивировать $10^7 - 10^8$ клеток, а для такого же количества растений необходима площадь свыше тысячи гектаров;
- мутантные признаки на уровне отдельных клеток проявляются довольно быстро;
- возможно получение новых типов мутаций, в том числе и биохимического характера;
- экономится время и трудозатраты на получение нового желаемого признака.

Основным требованием для успешного использования клеточного мутагенеза является хорошо разработанная система регенерации растений. Важным условием является также возможность получения гаплоидов у того или иного вида растений. В дальнейшую селекционную работу включаются только те генотипы, у которых мутации проявляются на уровне целого растения.

Растения с измененными признаками, полученные в результате мутагенеза на клеточном уровне, называются вариантами (термин «мутант» используется тогда, когда мутация подтверждается генетическими или молекулярно-генетическими методами). Рекомендуются следующие обозначения: R_0 – растения-регенеранты, полученные из соответствующих клеточных клонов, R_1 , R_2 и т.д. – первое и последующее поколения после самоопыления.

Общая схема получения мутантных форм путем селекции на клеточном уровне состоит из нескольких этапов (рис. 17):

Рис. 17. Схема получения мутантных форм путем клеточной селекции (по В.И. Артамонову, 1989)

Измененные при мутагенной обработке клетки могут быть выделены в условиях культивирования *in vitro* путем прямого и непрямого отборов, а также при тестировании отдельных клеточных колоний. Прямой отбор состоит в добавлении к питательным средам отдельных компонентов, к которым обычные, неизмененные клетки не устойчивы. Непрямой отбор (негативная селекция) заключается в создании условий культивирования, при которых рост неизмененных клеток либо задерживается, либо эти клетки погибают (например, культивирование при низких или высоких температурах на средах с недостатком отдельных компонентов и т.д.).

Существует ряд факторов, ограничивающих селекцию *in vitro*. Многие хозяйственно важные признаки, такие, как урожайность, количество зерна, устойчивость к пестицидам и другие трудно или практически невозможно получить при культивировании *in vitro* поскольку они не проявляются на клеточном уровне. Недостаточно также биохимических и молекулярных маркеров, которые коррелировали бы с этими признаками на уровне целых растений.

Не все селектируемые признаки, проявляющиеся на уровне клеток, сохраняются на уровне растений - регенерантов. Тому несколько причин: некоторая часть изменений не затрагивает генетический аппарат клетки, поэтому не сохраняется у потомков; генетические изменения могут элиминироваться в процессе дифференциации и мейоза; функция мутированного гена может быть ограничена состоянием дифференцируемых и культивируемых клеток; мутация одного гена может сопровождаться активацией различных генов, кодирующих изоферменты; часть генотипов неспособна регенерировать нормальные фертильные растения.

Читать дальше ► [микрклональное размножение растений](#)

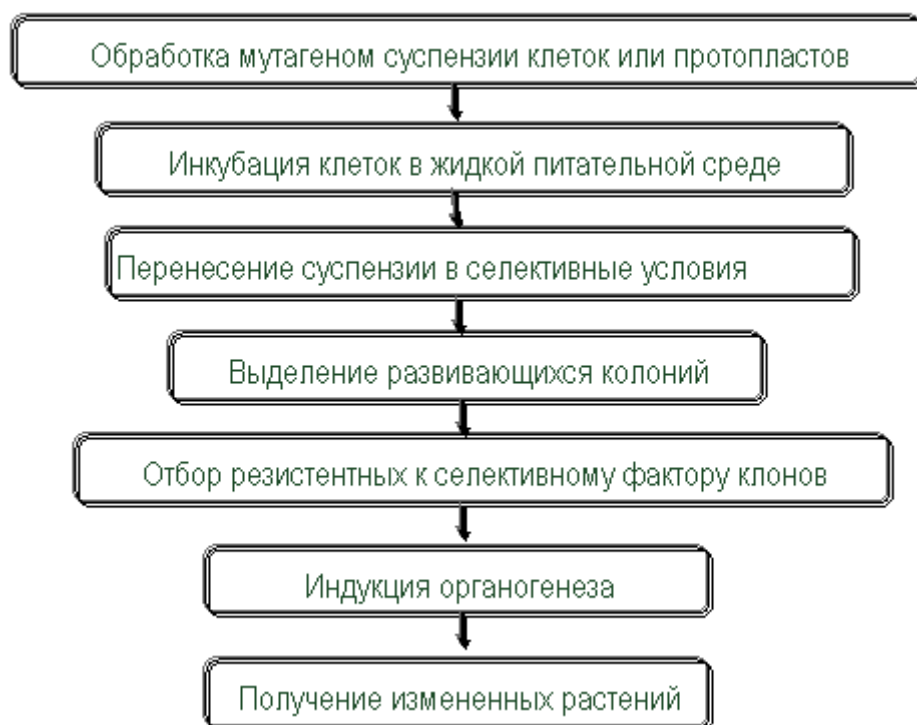


Рис. 15. Изолированные протопласты – объект и модель в физиологических исследованиях (по Р.Г. Бутенко, 1981)

Читать дальше ► [как выделить растительные протопласты](#)